

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 日本国特許庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

16.04.99

091424059

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて  
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed  
with this Office.

出願年月日  
Date of Application:

1998年 3月20日

REC'D 14 JUN 1999

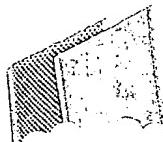
WIPO PCT

出願番号  
Application Number:

平成10年特許願第092431号

出願人  
Applicant(s):

サントリー株式会社

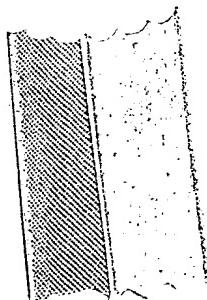
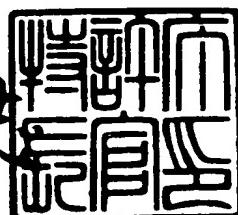


**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 5月28日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

佐山 建



出証番号 出証特平11-3033225

【書類名】 特許願  
【整理番号】 983449  
【提出日】 平成10年 3月20日  
【あて先】 特許庁長官 荒井 寿光 殿  
【国際特許分類】 C07C 50/08  
【発明の名称】 フェニルメチルベンゾキノンを有効成分とするN F - κ  
B 阻害剤  
【請求項の数】 29  
【発明者】  
【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー  
株式会社 生物医学研究所内  
【氏名】 布川 陽一  
【発明者】  
【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー  
株式会社 生物医学研究所内  
【氏名】 鈴木 賢治  
【特許出願人】  
【識別番号】 000001904  
【氏名又は名称】 サントリー株式会社  
【代理人】  
【識別番号】 100077517  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 石田 敬  
【電話番号】 03-5470-1900  
【代理人】  
【識別番号】 100087871  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 福本 積

【代理人】

【識別番号】 100088269

【弁理士】

【氏名又は名称】 戸田 利雄

【代理人】

【識別番号】 100082898

【弁理士】

【氏名又は名称】 西山 雅也

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 036135

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9718791

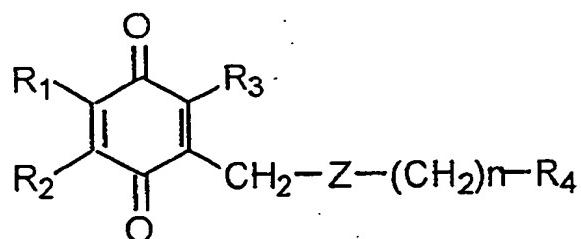
【書類名】 明細書

【発明の名称】 フェニルメチルベンゾキノンを有効成分とするNF-κB阻害剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次の一般式(I)：

【化1】



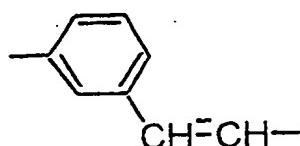
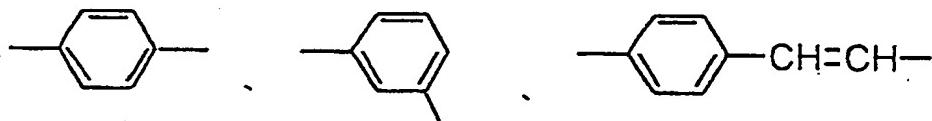
(式中、

$R_1$ ,  $R_2$  および  $R_3$  は各々独立に、水素原子、炭素数1～5のアルキル基または炭素数1～5のアルコキシ基であり；

$R_4$  は水素原子、ヒドロキシメチル基、アルキル基、またはエステル化もしくはアミド化されていてもよいカルボキシル基であり；

Zは、

【化2】



であり；

nは0～3の整数を示す)

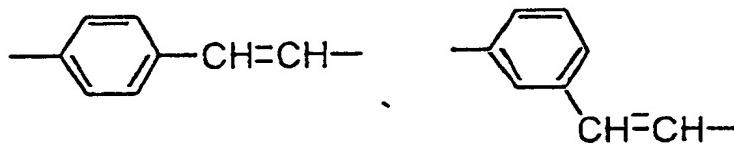
で表わされるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその葉理学的に許容し得る塩を有効成分とするNF- $\kappa$ B阻害剤。

【請求項2】  $R_1$  および  $R_2$  が水素原子、メチル基またはメトキシ基である請求項1に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤。

【請求項3】  $R_3$  が水素原子またはメチル基である請求項1または2に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤。

【請求項4】 Zが、

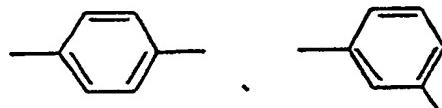
【化3】



であり、nが0の整数である、請求項1、2または3に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤

【請求項5】 Zが、

【化4】



であり、nが2の整数である、請求項1、2または3に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤

【請求項6】  $R_4$  が基-COO $R_5$ （式中、 $R_5$  は水素原子、炭素数1～6のアルキル基、置換されていてもよいフェニル基または置換されていてもよい炭素数7～10のアラルキル基を示す）である請求項1～5のいずれか1項に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤。

【請求項7】  $R_4$  が基-CO $NR_6R_7$ （式中、 $R_6$  および  $R_7$  は各々独立に水素原子、炭素数1～6のアルキル基、置換されていてもよいフェニル基、置換されていてもよい炭素数7～10のアラルキル基または、ヘテロアリールー

炭素数1～3のアルキル基を示すか、あるいはR<sub>6</sub>およびR<sub>7</sub>はそれらが結合している窒素原子と一緒にになって、更に窒素原子、酸素原子、硫黄原子を含んでいてもよい異項環基を示す)である請求項1～5のいずれか1項に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤。

【請求項8】 R<sub>4</sub>が基-CO NR<sub>6</sub> R<sub>7</sub>(式中、R<sub>6</sub>およびR<sub>7</sub>はそれらが結合している窒素原子と一緒にになって、置換されていてもよい、炭素原子および窒素原子以外に窒素原子、酸素原子、硫黄原子から選ばれる1～3個のヘテロ原子を含んでいてもよい5～8員含窒素複素環基を示し、これらはその環上の炭素原子または硫黄原子がオキシド化されていてもよい)である請求項1～5のいずれか1項に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤。

【請求項9】 R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がメトキシ基であり；R<sub>3</sub>がメチル基であり；R<sub>4</sub>がエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基であり；Zが、

【化5】



であり；nが2の整数である請求項1，6，7または8に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤。

【請求項10】 IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8, iNOS、顆粒球コロニー刺激因子、インターフェロン- $\gamma$ 、ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1、主要組織適合抗原系クラスI、主要組織適合抗原系クラスII、 $\beta$ 2-マイクログロブリン、免疫グロブリン軽鎖、血清アミロイドA、アンジオテンシンノーゲン、補体B、補体C4、c-myc, HIV, HTLV-1, SV40, CMVおよびアデノウイルスからなる群より選ばれた1または2以上の物質の遺伝子の発現抑制剤である請求項1～9のいずれか1項に記載のNF- $\kappa$ B阻害剤。

【請求項11】 炎症性疾患の予防または治療薬である請求項1～9のいず

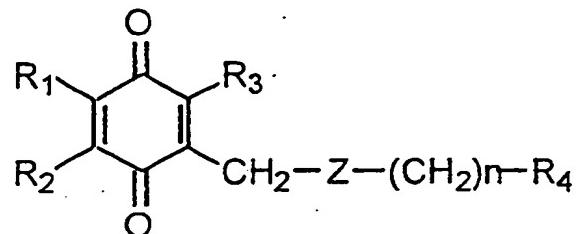
れか1項に記載のNF-κB阻害剤。

【請求項12】 自己免疫性疾患の予防または治療薬である請求項1～9のいずれか1項に記載のNF-κB阻害剤。

【請求項13】 ウィルス性疾患の予防または治療薬である請求項1～9のいずれか1項に記載のNF-κB阻害剤。

【請求項14】 次の一般式(I)：

【化6】



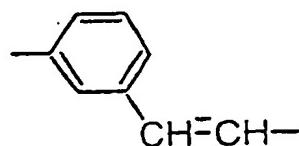
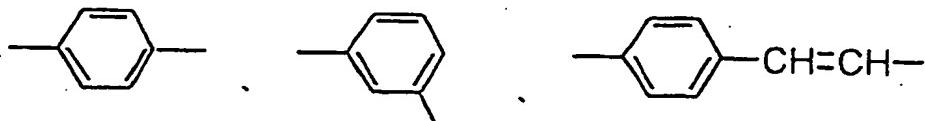
(I)

(式中、

$\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$ および $\text{R}_3$ は各々独立に、水素原子、炭素数1～5のアルキル基または炭素数1～5のアルコキシ基であり；  
 $\text{R}_4$ は水素原子、ヒドロキシメチル基、アルキル基、またはエステル化もしくはアミド化されていてもよいカルボキシル基であり；

Zは、

【化7】



であり；

nは0～3の整数を示す)

で表わされるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理学的に許容し得る塩を有効成分とするNF-κBの活性化に起因する疾患の予防または治療薬。

【請求項15】 下記のいずれか1つの新規化合物：

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]モルフォリン、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]チオモルフォリンS-オキシド、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]チオモルフォリンS-ジオキシド

、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]ピペリジン、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]ジメチルアミン、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]イソプロピルアミン、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]エタノールアミン、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]ベンジルアミン、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]フェネチルアミン、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]アクリロイル]モルフォリン、

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]アクリロイル]チオモルフォリン、

N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリロイル] ピペリジン、

N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリロイル] ジメチルアミン、

N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリロイル] イソプロビルアミン、

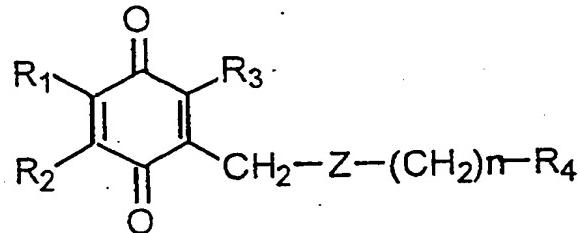
N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリロイル] エタノールアミン、

N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリロイル] ベンジルアミン、又は

N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリロイル] フェネチルアミン。

【請求項16】 次の一般式(I) :

【化8】



(I)

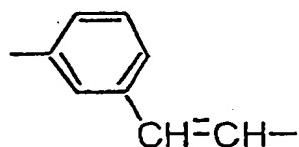
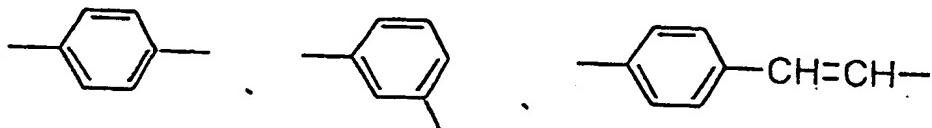
(式中、

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> および R<sub>3</sub> は各々独立に、水素原子、炭素数1～5のアルキル基または炭素数1～5のアルコキシ基であり；

R<sub>4</sub> は水素原子、ヒドロキシメチル基、アルキル基、またはエステル化もしくはアミド化されていてもよいカルボキシル基であり；

乙は、

【化9】



であり；

(nは0～3の整数を示す)

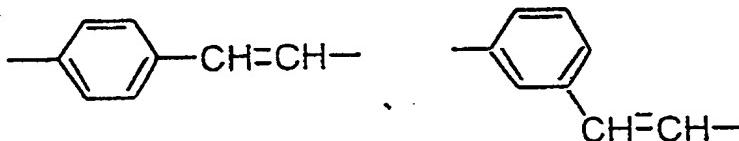
で表わされるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理学的に許容し得る塩を有効成分とするTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

【請求項17】  $R_1$  および  $R_2$  が水素原子、メチル基またはメトキシ基である請求項16に記載のTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

【請求項18】  $R_3$  が水素原子またはメチル基である請求項16または17に記載のTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

【請求項19】 Zが、

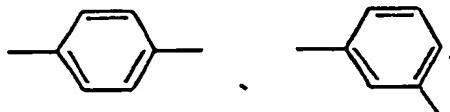
【化10】



であり、nが0の整数である、請求項16、17または18に記載のTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

【請求項20】 Zが、

## 【化11】



であり、nが2の整数である、請求項16、17または18に記載のTNF- $\alpha$ 產生抑制剤。

【請求項21】  $R_4$  が基-COO $R_5$ （式中、 $R_5$  は水素原子、炭素数1～6のアルキル基、置換されていてもよいフェニル基または置換されていてもよい炭素数7～10のアラルキル基を示す）である請求項16～20のいずれか1項に記載のTNF- $\alpha$ 產生抑制剤。

【請求項22】  $R_4$  が基-CO $NR_6R_7$ （式中、 $R_6$  および $R_7$  は各々独立に水素原子、炭素数1～6のアルキル基、置換されていてもよいフェニル基、置換されていてもよい炭素数7～10のアラルキル基、またはヘテロアリール-炭素数1～3のアルキル基を示すか、あるいは $R_6$  および $R_7$  はそれらが結合している窒素原子と一緒にになって、更に窒素原子、酸素原子、硫黄原子を含んでいてもよい異項環基を示す）である請求項16～20のいずれか1項に記載のTNF- $\alpha$ 產生抑制剤。

【請求項23】  $R_4$  が基-CO $NR_6R_7$ （式中、 $R_6$  および $R_7$  はそれらが結合している窒素原子と一緒にになって、置換されていてもよい、炭素原子および窒素原子以外に窒素原子、酸素原子、硫黄原子から選ばれる1～3個のヘテロ原子を含んでいてもよい5～8員含窒素複素環基を示し、これらはその環上の炭素原子または硫黄原子がオキシド化されていてもよい）である請求項16～20のいずれか1項に記載のTNF- $\alpha$ 產生抑制剤。

【請求項24】  $R_1$  および $R_2$  がメトキシ基であり； $R_3$  がメチル基であり； $R_4$  がエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基であり；乙が、

## 【化12】



であり；nが2の整数である、請求項16，21，22または23に記載のTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

【請求項25】 IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8, iNOS、顆粒球コロニー刺激因子、インターフェロン- $\gamma$ 、ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1、プラスミノーゲンアクティベーター阻害因子I、主要組織適合抗原系クラスI、主要組織適合抗原系クラスII、 $\beta$ 2-マイクログロブリン、免疫グロブリン軽鎖、血清アミロイドA、アンジオテンシノーゲン、補体B、補体C4、c-myc, HIV, HTLV-1, SV40, CMVおよびアデノウイルスからなる群より選ばれた1または2以上の物質の遺伝子の発現抑制剤である請求項16～24のいずれか1項に記載のTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

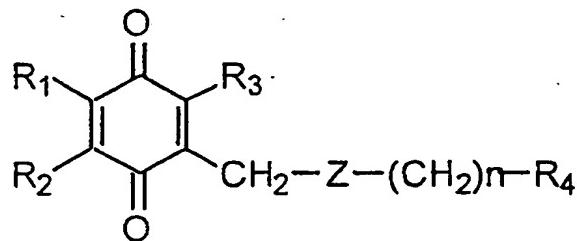
【請求項26】 炎症性疾患の予防または治療薬である請求項16～24のいずれか1項に記載のTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

【請求項27】 自己免疫性疾患の予防または治療薬である請求項16～24のいずれか1項に記載のTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

【請求項28】 ウィルス性疾患の予防または治療薬である請求項16～24のいずれか1項に記載のTNF- $\alpha$ 産生抑制剤。

【請求項29】 次の一般式(I)：

## 【化13】



(I)

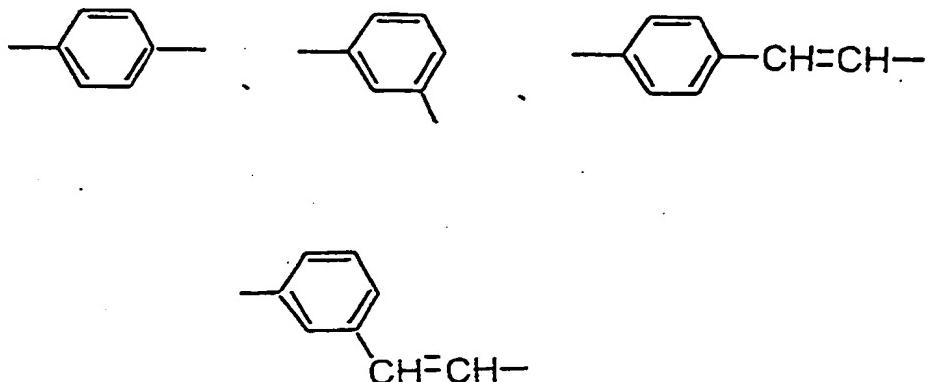
(式中、

$R_1$ ,  $R_2$  および  $R_3$  は各々独立に、水素原子、炭素数1~5のアルキル基または炭素数1~5のアルコキシ基であり；

$R_4$  は水素原子、ヒドロキシメチル基、アルキル基、またはエステル化もしくはアミド化されていてもよいカルボキシル基であり；

乙は、

【化14】



であり；

(nは0~3の整数を示す)

で表わされるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理学的に許容し得る塩を有効成分とするTNF- $\alpha$ 産生過剰に起因する疾患の予防または治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、NF- $\kappa$ B阻害剤に関し、さらに詳細には、ベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理学的に許容し得る塩を有効成分とするNF- $\kappa$ Bの活性化に起因する疾患の予防または治療薬に関する。

【0002】

【従来の技術】

一酸化窒素(NO)は、NO合成酵素(NOS)によってL-アルギニンを基

質として生合成されるが、NOSは、現在3種類のアイソザイム（脳型（bNOS）、血管内皮型（eNOS）、誘導型（iNOS））の存在が確認されている（Moncada, S. and Higgs, A. (1993) N Engl J Med 329, 2002-2012）。iNOSは、マクロファージや血管平滑筋細胞、肝細胞、軟骨細胞、神経謬細胞などにエンドトキシンやサイトカインを作用させることにより、転写が活性化されることにより、遺伝子が誘導されその発現が認められるようになる（Forstermann, U., Gath, I., Schwarz, P., Closs, E.I. and Kleinert, H. (1995) Biochem Pharmacol 50, 1321-1332）。

#### 【0003】

iNOSは、種を越えて炎症状態によって誘導されることが報告されており、その酵素活性及び発現の抑制は症状緩和に効果があることが示されている（Cattell, V. and Jansen, A. (1995) Histochem J 27, 777-784, Nussler, A.K. and Billiar, T.R. (1993) J Leukoc Biol 54, 171-178）。

心筋炎、脳梗塞、関節炎、敗血症、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、インシュリン依存型糖尿病発症のモデル動物では、アルギニン誘導体もしくはアミノグアニジンが *in vivo* で薬理効果を示したことが報告されている（Moncada, S. and Higgs, E.A. (1995) Faseb J 9, 1319-1330）。またNOS阻害剤であるL-N-モノメチルアルギニンは、高用量では毒性が強いが、敗血症における低血圧を改善するだけでなく、延命に対しても著効が認められ、臨床試験が行なわれている（Moncada, S. and Higgs, E.A. (1995) Faseb J 9, 1319-1330）。

#### 【0004】

また、iNOSのノックアウトマウスを用いた実験では、敗血症やカラゲニンによる炎症に対する抵抗性が示されており、iNOSが発現することはこれらの病態の原因であることが明らかとなっている（Wei, X.Q., Charles, I.G., Smith, A., Ure, J., Feng, G.J., Huang, F.P., Xu, D., Muller, W., Moncada, S. and Liew, F.Y. (1995) Nature 375, 408-411）。

#### 【0005】

この様に、iNOS発現誘導が原因となって產生される過剰なNOは、正常細

胞に傷害を与える、種々の病態を引き起こすと考えられる。一方、eNOSやbNOSと称される構成的に存在するNOS(cNOS)は、血圧の上昇を抑制し、維持するために必要である。そのためcNOSの活性を阻害せず、iNOSに特異的な阻害剤が求められているが、アイソザイムの酵素活性を制御する蛋白質の一次構造上の領域がそれぞれ酷似しているため、NOS阻害剤は特異性の点で十分なものは見いだされていないのが現状である(Ogden, J.E. and Moore, P.K. (1995) Trends Biotechnol 13, 70-78, Manning, R., Jr., Hu, L., Mizelle, H.L., Montani, J.P. and Norton, M.W. (1993) Hypertension 22, 40-48)。

## 【0006】

酵素阻害薬として、主としてL-アルギニン(およびアミノ酸)誘導体が開発されているが、アイソザイム特異性が乏しいものが多い。アミノグアニジンやアミジン誘導体は、効力が弱いながら比較的iNOS特異的な阻害活性を有することが報告されている(Southan, G.J. and Szabo, C. (1996) Biochem Pharmacol 51, 383-394)が、未だ十分な特異性を有する薬剤は見い出されていない。

## 【0007】

TNF- $\alpha$ は、マクロファージをはじめとする種々の細胞から産生されるサイトカインの一種で、炎症の重要なメディエーターとして考えられている(Vassalli, P. (1992) Annu Rev Immunol 10, 411-452)。TNF- $\alpha$ の過剰産生は正常な細胞に傷害を与え、種々の病態を引き起こすことが明らかになってきている(Muto, Y., Nouri-Aria, K.T., Meager, A., Alexander, G.J., Eddleston, A.L. and Williams, R. (1988) Lancet 2, 72-74, Sharief, M.K. and Hentges, R. (1991) N Engl J Med 325, 467-472)。

## 【0008】

例えば、慢性関節リウマチにおいて患者関節髄液中や、血中でTNF- $\alpha$ の増加が認められている(Tetta, C., Camussi, G., Modena, V., Di Vittorio, C. and Baglioni, C. (1990) Ann Rheum Dis 49, 665-667, Venn, G., Nietfeld, J.J., Duits, A.J., Brennan, F.M., Arner, E., Covington, M., Billingham, M.E. and Hardingham, T.E. (1993) Arthritis Rheum 36, 819-826)。また、TNF- $\alpha$ に対する抗体は臨床試験において有効性が示されている(Elliott, M.J.

., Maini, R.N., Feldmann, M., Long-Fox, A., Charles, P., Bijl, H. and Woody, J.N. (1994) Lancet 344, 1125-1127, Elliott, M.J., Maini, R.N., Feldmann, M., Kalden, J.R., Antoni, C., Smolen, J.S., Leeb, B., Breedveld, F.C., Macfarlane, J.D., Bijl, H. and et, al. (1994) Lancet 344, 1105-1110, Rankin, E.C., Choy, E.H., Kassimos, D., Kingsley, G.H., Sopwith, A.M., Isenberg, D.A. and Panayi, G.S. (1995) Br J Rheumatol 34, 334-342)。

#### 【0009】

さらに、敗血症や炎症性腸疾患においても TNF- $\alpha$  の関与が指摘されており、抗 TNF- $\alpha$  抗体はそれらの疾患の改善効果が認められている (Vincent, J.L., Bakker, J., Marecaux, G., Schandene, L., Kahn, R.J. and Dupont, E. (1992) Chest 101, 810-815, Hinshaw, L.B., Tekamp-Olson, P., Chang, A.C., Lee, P.A., Taylor, F., Jr., Murray, C.K., Peer, G.T., Emerson, T., Jr., Passsey, R.B. and Kuo, G.C. (1990) Circ Shock 30, 279-292)。

これらの知見から、過剰な TNF- $\alpha$  の産生は種々の炎症を引き起こし、また増悪させることが明らかとなり、TNF- $\alpha$  の産生抑制薬の開発が望まれている (Nyman, U., Mussener, A., Larsson, E., Lorentzen, J. and Klareskog, L. (1997) Clin Exp Immunol 108, 415-419)。

#### 【0010】

この様に iNOS や TNF- $\alpha$  は、様々な炎症の原因の一つであることは認識されている。しかしながら、それ以外の多くのメディエーターに関する、炎症の原因であることが明らかにされており、疾患の原因を一つのメディエータに特定できないことが、治療薬の開発を困難にしている。このような現状下において、特定のタンパク質の発現だけを抑制するのではなく、炎症の原因として関与するタンパク質の産生や発現を広く阻害できる低分子化合物が望まれている。

#### 【0011】

NF- $\kappa$ B は、遺伝子発現の調節を行うタンパク質であって、いわゆる転写因子の一つである。正常細胞をインターロイキン-1 (IL-1) や TNF- $\alpha$  といった炎症性サイトカイン、リポ多糖で、または紫外線などで刺激すると NF- $\kappa$ B は、活性化されて、細胞質から核内へ移行し、ゲノムDNA上の特異塩基配

列に結合し、種々の遺伝子の発現に関与するようになる (Blackwell, T.S. and Christman, J.W. (1997) Am J Respir Cell Mol Biol 17, 3-9)。

#### 【0012】

iNOSおよびTNF- $\alpha$ をコードする遺伝子は、全く異なる遺伝子であるが、そのゲノム遺伝子の発現調節領域にNF- $\kappa$ Bが結合する領域が認められ、NF- $\kappa$ Bの活性化がそれらタンパク質の発現に共通して重要であることが明らかになっている (Jongeneel, C.V. (1994) Prog Clin Biol Res 388, 367-381, Xie, Q.W., Kashiwabara, Y. and Nathan, C. (1994) J Biol Chem 269, 4705-4708, Nunokawa, Y., Oikawa, S. and Tanaka, S. (1996) Biochem Biophys Res Commun 223, 347-352)。

#### 【0013】

NF- $\kappa$ Bによって発現調節を受けている遺伝子は、iNOSやTNF- $\alpha$ にとどまらず、IL-1, IL-6, IL-8などの炎症性サイトカインや、ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1などの細胞接着因子などの免疫炎症反応に関与するものに多く認められている (Collins, T., Read, M.A., Neish, A.S., Whitley, M.Z., Thanos, D. and Maniatis, T. (1995) Faseb J 9, 899-909)。さらに、炎症性サイトカインは、レセプターに結合すると種々の経路によって、NF- $\kappa$ Bを活性化するシグナルを伝達していくことが知られており、そのことが炎症を一層悪化させる原因とも考えられている。このように、炎症においてNF- $\kappa$ Bの活性化は、疾病の原因および増悪因子として理解されている (Baeuerle, P.A. and Baichwal, V.R. (1997) Adv Immunol 65, 111-137)。

#### 【0014】

また、HIV, HTLV-1, CMV、アデノウイルスなどは宿主細胞におけるNF- $\kappa$ Bを活性化することが近年報告されている (Dezube, B.J., Pardee, A.B., Beckett, L.A., Ahlers, C.M., Ecto, L., Allen-Ryan, J., Anisowicz, A., Sager, R. and Crumpacker, C.S. (1992) J Acquir Immune Defic Syndr 5, 1099-1104, Nabel, G. and Baltimore, D. (1987) Nature 326, 711-713, Fazely, F., Dezube, B.J., Allen-Ryan, J., Pardee, A.B. and Ruprecht, R.M. (1991) Blood 77, 1653-1656, Munoz, E. and Israel, A. (1995) Immunobiology

193, 128-136)。NF- $\kappa$ Bの活性化によってその転写が活性化され、ウイルスの増殖と感染が進行する。

#### 【0015】

したがって、活性化されたNF- $\kappa$ Bを抑制することにより、これらの炎症性サイトカインや接着分子遺伝子およびウイルスの発現誘導を、一網打尽に抑制することが可能であり、NF- $\kappa$ B活性化抑制物質は、NF- $\kappa$ Bの活性化が直接または間接的に原因となる疾患、特に種々の炎症性疾患、自己免疫性疾患の治療薬、免疫抑制剤、ウイルス性疾患の治療薬として有望である。

#### 【0016】

現在、慢性疾患の治療薬とし、グルココルチコイドなどのステロイドホルモンや非ステロイド剤のアスピリン製剤などが使用されている。しかしながら、グルココルチコイドは感染症の憎悪、消化性潰瘍の発生、中枢作用などの重篤な副作用が現れることが知られており、長期投与ができないという問題がある。また、非ステロイド剤はプロスタグランジンなどの産生を抑制するが、根本治療とはならず、消化性潰瘍の発生や中枢作用などの副作用が現れることが知られている。

#### 【0017】

近年、これらの抗炎症薬が高用量でNF- $\kappa$ Bの活性化を抑制することも報告されている (Auphan, N., DiDonato, J.A., Rosette, C., Helmberg, A. and Karin, M. (1995) Science 270, 286-290, Shackelford, R.E., Alford, P.B., Xue, Y., Thai, S.F., Adams, D.O. and Pizzo, S. (1997) Mol Pharmacol 52, 421-429, Bitko, V., Velazquez, A., Yang, L., Yang, Y.C. and Barik, S. (1997) Virology 232, 369-378)。しかしながら、これらの化合物は、多岐にわたる薬理作用のため副作用を有しており、より安全性の高い新しいメカニズムに基づく薬剤の開発が望まれている。

#### 【0018】

また、TNF- $\alpha$ の作用を阻害する方法には、TNF- $\alpha$ に特異的に結合する抗体や、TNF受容体タンパク質を利用することが考えられるが、いずれも高分子タンパク質であり、経口投与に適していない。

なお、フェニルメチルベンゾキノン誘導体は、低用量でアノキシア実験動物に

対して脳機能改善作用を示し、脳内器質性障害および精神機能障害の改善、治療薬としての有効性が示されている (Suzuki, K., Tatsuoka, T., Murakami, T., Ishihara, T., Aisaka, K., Inoue, T., Ogino, R., Kuroki, M., Miyazaki, T., Satoh, F., Miyano, S. and Sumoto, K. (1996) Chem Pharm Bull 44, 139-144)。しかしながら、これまでに炎症メディエーターの产生に対する作用は知られていなかった。

#### 【0019】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、NF- $\kappa$ Bが活性化されるのを抑制することによって、NF- $\kappa$ Bの活性化に起因する疾患、例えば種々の炎症メディエーターの過剰產生やウイルスの増殖に起因する疾病に対する予防および治療薬を提供するものである。より具体的にはNOやTNF- $\alpha$ の過剰產生が発症原因として考えられる疾患、例えば敗血症ショック、変形性関節症、慢性関節リウマチ、悪液質、多臓器不全、炎症性腸疾患、マラリア、後天性免疫不全症候群、ヒトT細胞白血病、髄膜炎、肝炎、II型糖尿病、多発性硬化症、ベーチェット病、全身性紅斑性狼瘡、全身性エリテマトーデス、虚血性心疾患などの治療および予防薬を提供するものである。

#### 【0020】

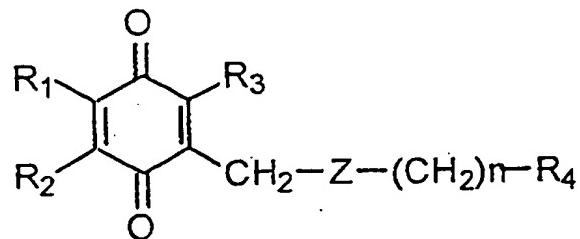
##### 【課題を解決するための手段】

発明者らは、NF- $\kappa$ Bが活性化されるのを抑制する物質について鋭意研究を重ねた結果、一般式(1)で表されるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理学的に許容し得る塩が強力にNF- $\kappa$ Bが活性化されるのを抑制することを見い出し、さらに、これらがNOおよびTNF- $\alpha$ の产生を遺伝子レベルで抑制するとの知見を得て本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、次の一般式(I)：

#### 【0021】

【化15】



【0022】

(式中、

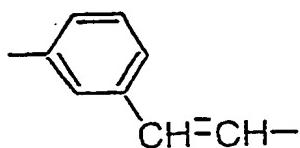
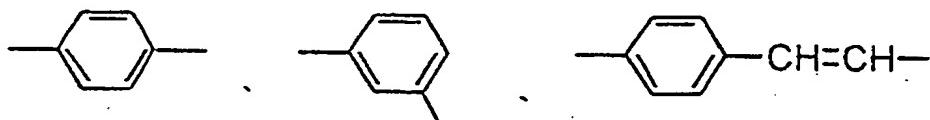
$R_1$ ,  $R_2$  および  $R_3$  は各々独立に、水素原子、炭素数1～5のアルキル基または炭素数1～5のアルコキシ基であり；

$R_4$  は水素原子、ヒドロキシメチル基、アルキル基、またはエステル化もしくはアミド化されていてもよいカルボキシル基であり；

乙は、

【0023】

【化16】



【0024】

であり；

 $n$  は0～3の整数を示す)

で表わされるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理

学的に許容し得る塩を有効成分とするNF- $\kappa$ B阻害剤、およびこれらの炎症性疾患、自己免疫性疾患、ウイルス性疾患の予防または治療薬への使用に関し、これらはIL-1, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8, iNOS、顆粒球コロニー刺激因子、インターフェロン- $\gamma$ 、ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1、主要組織適合抗原系クラスI、主要組織適合抗原系クラスII、 $\beta$ 2-マイクログロブリン、免疫グロブリン軽鎖、血清アミロイドA、アンジオテンシンogen、補体B、補体C4、c-myc, HIV, HTLV-1, SV40, CMVおよびアデノウイルスからなる群より選ばれた1または2以上の物質の遺伝子の発現抑制剤として使用される。

#### 【0025】

また、一般式(1)で表されるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理学的に許容し得る塩を有効成分とするNF- $\kappa$ Bの活性化に起因する疾患の予防または治療薬が提供される。

さらに、一般式(1)で表わされるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理学的に許容し得る塩を有効成分とするTNF- $\alpha$ 産生抑制剤およびこれらの炎症性疾患、自己免疫性疾患、ウイルス性疾患の予防または治療薬への使用に関し、これらはIL-1, TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8, iNOS、顆粒球コロニー刺激因子、インターフェロン- $\gamma$ 、ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1、プラスミノーゲンアクティベーター阻害因子I、主要組織適合抗原系クラスI、主要組織適合抗原系クラスII、 $\beta$ 2-マイクログロブリン、免疫グロブリン軽鎖、血清アミロイドA、アンジオテンシンogen、補体B、補体C4、c-myc, HIV, HTLV-1, SV40, CMVおよびアデノウイルスからなる群より選ばれた1または2以上の物質の遺伝子の発現抑制剤として使用される。

#### 【0026】

また、一般式(I)で表わされるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその薬理学的に許容し得る塩を有効成分とするTNF- $\alpha$ 産生過剰に起因する疾患の予防または治療薬が提供される。

なお、本発明においてヒドロキノン体とは、本発明に係るベンゾキノン誘導体

が触媒等により化学的にまたは酵素等により生化学的にベンゾキノン環の1位および/または4位のオキソが還元されてヒドロキシ基に変換されるか、または、生体内で還元されて変換されて、かつ、ベンゾキノン誘導体と同等の活性を有するものを意味する。

## 【0027】

また、薬理学的に許容し得る塩としては、例えば、塩酸、硝酸、硫酸、リン酸、臭化水素酸等の無機酸またはマレイン酸、フマル酸、酒石酸、乳酸、クエン酸、酢酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、アジピン酸、パルミチン酸、タンニン酸等の有機酸、リチウム、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属のような無機金属、リジン等の塩基性アミノ酸との塩、あるいはアンモニウム等の有機アミンとの塩をあげることができる。

## 【0028】

式中、 $R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  は各々独立に、水素原子、炭素数1～5のアルキル基または炭素数1～5のアルコキシ基を示し、アルキル基の好ましい例としてはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチルなど炭素数1～5の直鎖または分岐鎖の飽和脂肪族炭化水素基、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの飽和脂環式炭化水素基およびシクロプロピルメチル、シクロプロピルエチル、シクロブチルメチル等の飽和脂環式炭化水素-脂肪族炭化水素基などがあげられ、またアルコキシ基としてはこれらのオキシ基があげられる。好ましい例としては、 $R_1$  および  $R_2$  としては水素原子、メチル基またはメトキシ基があげられ、また、 $R_3$  として水素原子またはメチル基があげられる。

## 【0029】

また、 $R_4$  は水素原子、ヒドロキシメチル基、アルキル基、またはエステル化もしくはアミド化されていてもよいカルボキシル基を示し、アルキル基の好ましい例としては  $R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  について前記したものがあげられ、また、エステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基の好ましい例としては

、基-COO<sub>R<sub>5</sub></sub>（式中、R<sub>5</sub>は水素原子、炭素数1～6のアルキル基、置換されていてもよいフェニル基または置換されていてもよい炭素数7～10のアラルキル基を示す）、基-CO<sub>N R<sub>6</sub> R<sub>7</sub></sub>（式中、R<sub>6</sub>およびR<sub>7</sub>は各々独立に水素原子、炭素数1～6のアルキル基、置換されていてもよいフェニル基、置換されていてもよい炭素数7～10のアラルキル基、またはヘテロアリールー炭素数1～3のアルキル基を示すか、あるいはR<sub>6</sub>およびR<sub>7</sub>はそれらが結合している窒素原子と一緒にになって、更に窒素原子、酸素原子、硫黄原子を含んでいてもよい異項環基を示す）または基-CO<sub>N R<sub>6</sub> R<sub>7</sub></sub>（式中、R<sub>6</sub>およびR<sub>7</sub>はそれらが結合している窒素原子と一緒にになって、置換されていてもよい、炭素原子および窒素原子以外に窒素原子、酸素原子、硫黄原子から選ばれる1～3個のヘテロ原子を含んでいてもよい5～8員含窒素複素環基を示し、これらはその環上の炭素原子または硫黄原子がオキシド化されていてもよい）があげられる。

### 【0030】

具体例として、R<sub>5</sub>の炭素数1～6のアルキル基としてはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、tert-ペンチルなどの炭素数1～6の直鎖または分岐鎖の飽和脂肪族炭化水素基、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなどの飽和脂環式炭化水素基およびシクロプロピルメチル、シクロプロピルエチル、シクロブチルメチル、シクロペンチルメチルなどの飽和脂環式炭化水素-脂肪族炭化水素基等、炭素数7～10のアラルキル基としてはベンジル、フェネチル、1-フェニルエチル、3-フェニルプロピル等があげられる。

### 【0031】

フェニル基およびアラルキル基は、その環上に例えばメチル基、エチル基、プロピル基のようなアルキル基、塩素原子、フッ素原子のようなハロゲン原子、カルボキシル基、ジメチルアミノカルボニル基のようなアルキル基で置換されていてもよいカルバモイル基等から選ばれた1～2個の置換基で置換されていてもよい。また、R<sub>6</sub>およびR<sub>7</sub>の炭素数1～6のアルキル基、置換されてもよいフェニル基、置換されてもよい炭素数7～10のアラルキル基としてはR<sub>5</sub>について

前記したものがあげられ、ヘテロアリールー炭素数1～3のアルキル基としては例えば、2-ピリジルメチル基、3-ピリジルメチル基、2-ピリミジニルメチル基、2-イミダゾリルメチル基、2-ピリジルエチル基、3-ピリジルエチル基などがあげられる。

## 【0032】

また、R<sub>6</sub> およびR<sub>7</sub> のそれらが結合している窒素原子と一緒にになって、更に窒素原子、酸素原子、硫黄原子を含んでいてもよい異項環基または置換されていてもよい、炭素原子および窒素原子以外に窒素原子、酸素原子、硫黄原子から選ばれる1～3個のヘテロ原子を含んでいてもよい5～8員含窒素複素環基の好ましい具体例としては、例えば、モルフォリノ、チオモルフォリノ、ピロリジノ、ピペリジノ、ホモピペリジノ、ピペラジノ、ホモピペラジノ等があげられる。

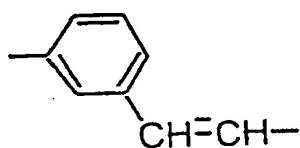
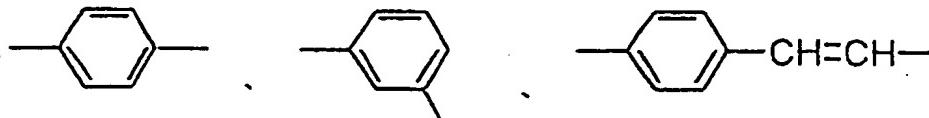
## 【0033】

これらは、その環上の炭素原子または硫黄原子がオキシド化されていてもよく、また環上に例えば、メチル基、エチル基、プロピル基のようなアルキル基、塩素原子、フッ素原子のようなハロゲン原子、カルボキシル基、ジメチルアミノカルボニル基のようなアルキル基で置換されていてもよいカルバモイル基、フェニル基のようなアリール基、ベンジル基のようなアラルキル基などから選ばれた1～2個の置換基を有していてもよい。

Zは、

## 【0034】

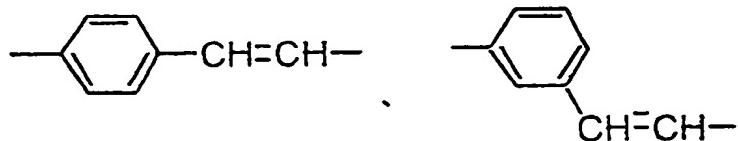
## 【化17】



## 【0035】

で示され、nは0～3の整数を示すが、好ましい例としては、乙が、

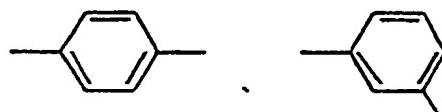
## 【化18】



## 【0036】

であり、nが0の整数である場合、また乙が、

## 【化19】

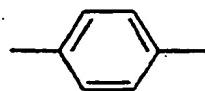


## 【0037】

であり、nが2の整数である場合があげられる。

特に好ましくは、R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> がメトキシ基であり； R<sub>3</sub> がメチル基であり； R<sub>4</sub> がエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシリ基であり； Z が、

## 【化20】



であり；nは2の整数である場合があげられる。

## 【0038】

好ましい具体的化合物としては、下記の化合物があげられる。

N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン

– 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] モルフォリン、  
 N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] チオモルフォリン、  
 N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] チオモルフォリン S – オキシド、  
 N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] チオモルフォリン S – ジオキシド

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] ピペリジン、  
 N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] ジメチルアミン、

## 【0039】

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] イソプロピルアミン、

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] エタノールアミン、

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] ベンジルアミン、

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] プロピオニル] フェネチルアミン、

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] アクリロイル] モルフォリン、

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] アクリロイル] チオモルフォリン、

## 【0040】

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] アクリロイル] ピペリジン、

N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン

– 2 – イルメチル) フェニル] アクリロイル] ジメチルアミン、  
 N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] アクリロイル] イソプロピルアミン、  
 N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] アクリロイル] エタノールアミン、  
 N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] アクリロイル] ベンジルアミン、  
 N – [3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン  
 – 2 – イルメチル) フェニル] アクリロイル] フェネチルアミン、

## 【0041】

3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 –  
 イルメチル) フェニル] プロピオン酸、  
 3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 –  
 イルメチル) フェニル] アクリル酸、  
 2, 3 – ジメトキシ – 6 – ベンジル – 5 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン、  
 3 – [4 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 –  
 イルメチル) フェニル] プロパノール、  
 3 – [3 – (5, 6 – ジメトキシ – 3 – メチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 –  
 イルメチル) フェニル] プロピオン酸エチルエステル、  
 3 – [3 – (3, 5, 6 – トリメチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 – イルメチ  
 ル) フェニル] アクリル酸、

3 – [3 – (3, 5, 6 – トリメチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 – イルメチ  
 ル) フェニル] プロピオン酸、

## 【0042】

3 – [3 – (3, 5, 6 – トリメチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 – イルメチ  
 ル) フェニル] プロピオン酸エチルエステル、  
 N – [3 – [3 – (3, 5, 6 – トリメチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 – イ  
 ルメチル) フェニル] プロピオニル] モルフォリン、  
 1 – [3 – [3 – (3, 5, 6 – トリメチル – 1, 4 – ベンゾキノン – 2 – イ

ルメチル) フェニル] プロピオニル] -4-メチルピペラジン、  
 4-[3-(3, 5, 6-トリメチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] 酪酸、  
 3-[3-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] プロピオン酸、  
 3-[4-(3, 5, 6-トリメチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリル酸、

## 【0043】

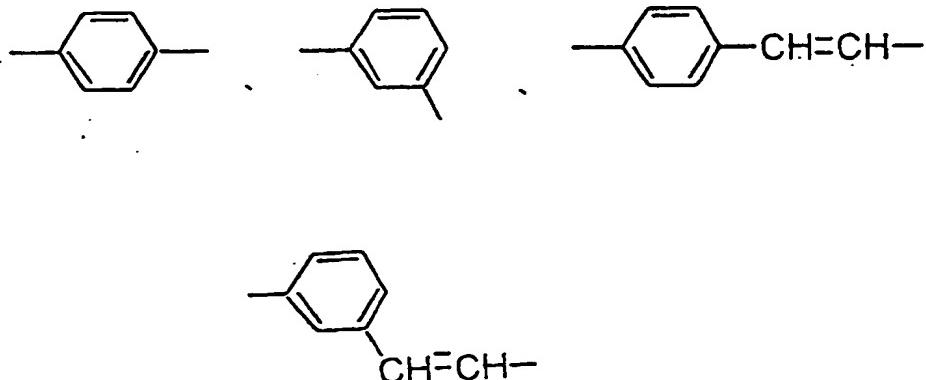
3-[4-(3, 5, 6-トリメチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリル酸エチルエステル、  
 3-[4-(3, 5, 6-トリメチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] プロピオン酸、及び  
 4-[4-(3, 5, 6-トリメチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] 酪酸。

本発明の有効成分として用いられる一般式(1)で示されるベンゾキノン誘導体は、特開昭62-286949号公報またはChem.Pharm.Bull., 44(1), 139-1 44(1996)に記載の方法およびこれらに準じた方法に従って製造できる。

また、一般式(1)において、R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> が水素原子、メチル基またはメトキシ基；R<sub>3</sub> が水素原子またはメチル基；R<sub>4</sub> はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基；Z が

## 【0044】

【化21】



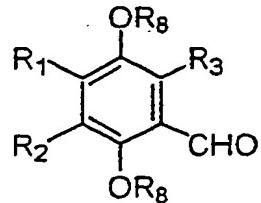
; nは0または2の整数で表されるベンゾキノン誘導体は、下記の合成法によつても製造が可能である。

【0045】

方法1

一般式 (II) :

【化22】

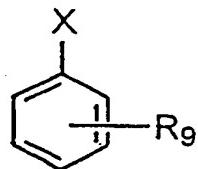


(II)

(式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> およびR<sub>3</sub> は前記定義の通りであり、R<sub>8</sub> は炭素数1～5のアルキル基を表わす) で表わされるアルデヒドに一般式 (III) :

【0046】

【化23】

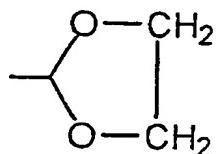


(III)

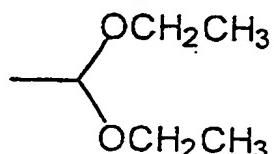
(式中Xは臭素原子または塩素原子を表わし、 $R_9$ は基

【0047】

【化24】



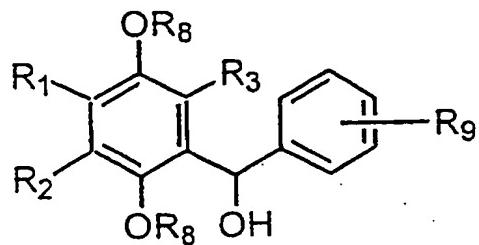
または



を表わす)で表わされるハライドのグリニアール試薬を作用することにより一般式(IV) :

【0048】

【化25】



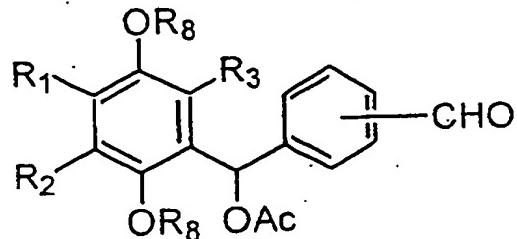
(IV)

(式中 $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_8$ および $R_9$ は前記定義通りである)で表わされる化合物を得ることができる。化合物(IV)を、例えばピリジン、4-ジメチルア

ミノピリジンなどの塩基の存在下に無水酢酸と作用させてアセチル化物とし、続いて例えばp-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などの酸の存在下にアセトン溶液中で脱アセタール化反応を行うことにより、一般式(V)：

【0049】

【化26】

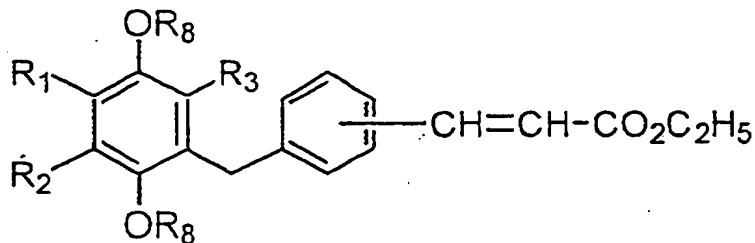


(V)

(式中  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  および  $R_8$  は前記定義の通りである) で表わされるアルデヒドとする。このアルデヒドにトリエチルホスホニアセテートのヴィティヒ (Wittig) 試薬を作用させ、さらにトリメチルシリルトリフルオロメタンスルフォネート (以下 TMSOTf と略す) などの酸触媒の存在下でトリエチルシリランなどの還元剤を用いて還元反応を行うことにより一般式(VI)：

【0050】

【化27】

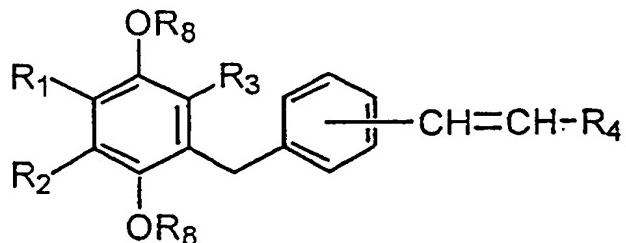


(VI)

(式中  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  および  $R_8$  は前記定義の通りである) で表わされる化合物を得ることができる。化合物 (VI) を通常用いられる方法で加水分解するか、さらにエステル化またはアミド化反応に付すことにより一般式(VII)：

【0051】

【化28】

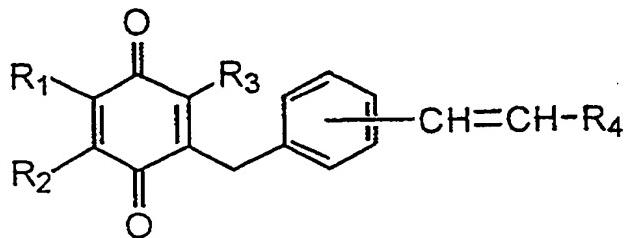


(式中  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  および  $R_8$  は前記定義の通りで、 $R_4$  はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を表わす) で表わされる化合物とする。

【0052】

続いて化合物 (VII) を硝酸第二セリウムアンモニウム（以下 CAN と略す）で酸化することにより一般式 (Ia) :

【化29】



(Ia)

(式中  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  および  $R_4$  は前記定義の通りである) で表わされる本発明の化合物を得ることができる。また、式 (Ia) 中の  $R_4$  がカルボキシル基である化合物を用いて、通常のエステル化またはアミド化反応によりエステルおよびアミド誘導体に導くことも可能である。

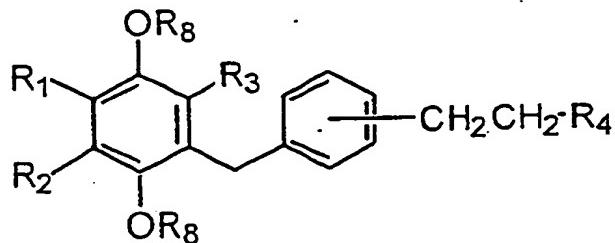
【0053】

方法2

前記の方法で得た一般式(VI)で表わされる化合物を通常の方法により接触還元した後、加水分解するか、さらにエステル化またはアミド化反応に付すことにより一般式(VIII)：

【0054】

【化30】

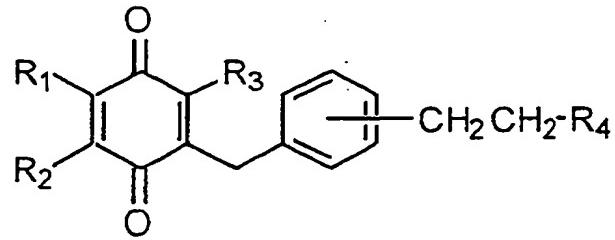


(VIII)

(式中  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  および  $R_8$  は前記定義の通りである)で表わされる化合物とする。続いて化合物(VIII)をCANで酸化することにより一般式(Ib)：

【0055】

【化31】



(Ib)

(式中  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  および  $R_4$  は前記定義の通りである)で表わされる本発明の化合物を得ることができる。

また、式(Ib)中のR<sub>4</sub>がカルボキシル基である化合物を用いて、通常のエステル化またはアミド化反応によりエステルおよびアミド誘導体は導くことも可能である。

得られた本発明の化合物(I)は、必要に応じて上記した種々の塩に変換することができ、また、再結晶、カラムクロマトグラフィー等の手段で精製することができる。

#### 【0056】

一般式(I)で表わされる本発明に係る物質は、NF-κBが活性化されるのを抑制することができるため、NF-κBの活性化に起因する疾患、例えば種々の炎症メディエーターの過剰産生やウイルスの増殖に起因する疾病に対する予防薬および治療薬として有効である。具体的には、例えば、NOやTNF-αの過剰産生に起因する疾患、例えば、敗血症ショック、変形性関節症、慢性関節リウマチ、悪液質、多臓器不全、炎症性腸疾患、マラリア、後天性免疫不全症候群、ヒトT細胞白血病、髄膜炎、肝炎、II型糖尿病、多発性硬化症、ベーチェット病、全身性紅斑性狼瘡、全身性エリテマトーデス、虚血性心疾患などに対する治療及び予防薬として有用である。

#### 【0057】

本発明に係る化合物を上述の医薬組成物として使用する場合、例えば、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤等の剤形で経口的に、あるいは水若しくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との溶液、又は懸濁液剤等の注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、当該化合物と、生理学的に認められる担体、香味剤、賦形剤、安定剤等とを、一般に認められた形態で混和することによって製造することができる。錠剤等に混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチンのような結合剤、コーンスタークのような膨化剤、結晶性セルロースのような賦形剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤等を用いることができる。カプセルの剤形である場合には、前記の組成物に更に液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物も、通常の処方を適用することができる。

#### 【0058】

注射用の水溶液としてはブドウ糖等を含む等張液等が挙げられ、ポリエチレングリコールのような適当な溶解補助剤等と併用してもよい。また、緩衝剤、安定剤、保存剤、酸化防止剤、無痛化剤等を配合してもよい。このようにして得られる製剤は、例えば、ヒトをはじめとする哺乳動物に対して投与することができる。投与量は、症状等により差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人においては、1日につき約0.01～100mg、好ましくは約0.1～50mg、より好ましくは約1.0～25mgである。非経口的に投与する場合は、例えば、注射剤の場合、一般的に成人においては、1日につき約0.001～50mg程度、好ましくは約0.01～25mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好ましい。

#### 【0059】

NF- $\kappa$ B阻害効果は、NF- $\kappa$ Bの活性化によって制御されている遺伝子の発現を検出することや、その遺伝子がコードするタンパク質の発現量を直接、または間接的に測定することで調べることができる。

また、炎症性タンパク質の過剰発現を抑制する効果は、実施例に結果として示してあるように、IL-1やTNF- $\alpha$ などのサイトカインやリポ多糖などで細胞もしくは動物個体を刺激することによって、培養液または体液中に上昇していく炎症性タンパク質量を直接もしくは間接的に測定することで調べることができる。

#### 【0060】

また、広義の抗炎症作用を *in vivo* で確認する方法としては、デキストランやカラゲニンを用いた浮腫を抑制する効果で調べることができる。このモデルにおいてはNOやTNF- $\alpha$ の産生を抑制することが有効であることが報告されている (Filion, M.C. and Phillips, N.C. (1997) Br J Pharmacol 122, 551-557, Tsao, P.W., Suzuki, T., Totsuka, R., Murata, T., Takagi, T., Ohmachi, Y., Fujimura, H. and Takata, I. (1997) Clin Immunol Immunopathol 83, 173-178, Cuzzocrea, S., Zingarelli, B., Hake, P., Salzman, A.L. and Szabo, C. (1998) Free Radic Biol Med 24, 450-459)。さらに、具体的な疾患に対しては、敗血症治療薬としての効果は、マウスなどの動物にリポ多糖を投与し

、生存率を改善することで推測することができる。

#### 【0061】

また、慢性関節リウマチ治療薬としての効果は、アジュバントを用いた関節炎の動物モデルで薬効を推定することもできる。心筋梗塞のモデル動物を使用した場合には、NF- $\kappa$ Bのデコイ（おとり）配列を有するDNAが梗塞巣を抑制することが示されている（Sawa, Y., Morishita, R., Suzuki, K., Kagisaki, K., Kaneda, Y., Maeda, K., Kadoba, K. and Matsuda, H. (1997) Circulation 96, II-280-284; discussion II-285）ので、この様なモデル動物も虚血性心疾患治療薬の薬効を調べるのに適している。

このように、NOおよびTNF- $\alpha$ 産生作用を有するNF- $\kappa$ B阻害薬の疾患治療薬としての効果は、当業者であれば作製可能な公知のモデル動物によっても確認することができる。

#### 【0062】

##### 【実施例】

以下に実施例および実験例を記載して、本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例1. 3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] プロピオン酸の合成

工程1. 2-{4-[ヒドロキシ-(2, 3, 4, 5-テトラメトキシ-6-メチルフェニル) メチル] フェニル}-1, 3-ジオキソラン

#### 【0063】

2, 3, 4, 5-テトラメトキシ-6-メチルベンズアルデヒド (5. 03 g、20. 94 mmol) のTHF (200 ml) 溶液に、冰冷下、2-(4-ブロモフェニル)-1, 3-ジオキソラン (12. 0 g、52. 4 mmol) とマグネシウム (1. 40 g、57. 6 mmol) から調製したグリニアール試薬を滴下し、室温で4時間攪拌した。反応液を水にあけ、エーテル抽出した。抽出液は水洗、乾燥した後、溶媒を留去した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル=3:1）で精製し、標題化合物 (7. 80 g、20. 0 mmol) を得た。

## 【0064】

工程2. 4-[アセトキシ-(2, 3, 4, 5-テトラメトキシ-6-メチルフェニル)メチル]ベンズアルデヒド

工程1で得た化合物(7.80g、20.0mmol)を塩化メチレン(300ml)に溶解し、無水酢酸(6.12g、60.0mmol)、ピリジン(4.74g、59.9mmol)および4-ジメチルアミノピリジン(1.22g、10.0mmol)を加えた後、室温で16時間攪拌した。

## 【0065】

反応液を5%塩酸水溶液および飽和食塩水で洗浄後、乾燥し、溶媒を留去した。残査およびp-トルエンスルホン酸1水和物(200mg)をアセトン(300ml)に溶解し、室温で6時間攪拌した。反応液を減圧濃縮後、水およびエーテルを加えて抽出した。抽出液を水洗、乾燥した後、溶媒を留去した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン：酢酸エチル=3:1)で精製し、標題化合物(3.97g、10.2mmol)を得た。

## 【0066】

工程3. 3-{4-[アセトキシ-(2, 3, 4, 5-テトラメトキシ-6-メチルフェニル)メチル]フェニル}アクリル酸エチルエステル

ホスホノ酢酸トリエチル(1.70g、7.58mmol)をTHF(150ml)に溶解し、室温で水素化ナトリウム(303mg、60%、7.58mmol)を加えた後、40分間攪拌した。反応液に、冰冷下、工程2で得た化合物(2.26g、5.82mmol)のTHF(50ml)溶液を滴下し、室温で16時間攪拌した。反応液を水にあけ、エーテル抽出した。抽出液は、水洗、乾燥した後、溶媒を留去した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン：酢酸エチル=3:1)で精製し、標題化合物(2.37g、5.17mmol)を得た。

## 【0067】

工程4. 3-[4-(2, 3, 4, 5-テトラメトキシ-6-メチルベンジル)フェニル]アクリル酸エチルエステル

トリエチルシラン(720mg、6.21mmol)およびトリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル(TMSOTf)の塩化メチレン(250ml)溶液に、

工程3で得た化合物(2.37g、5.17mmol)の塩化メチレン(50ml)溶液を滴下し、室温で30分間攪拌した。反応液を水洗、乾燥した後、溶媒を留去した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン：酢酸エチル=4:1)で精製し、標題化合物(1.90g、4.74mmol)を得た。

## 【0068】

工程5. 3-[4-(2, 3, 4, 5-テトラメトキシ-6-メチルベンジル)フェニル]プロピオン酸エチルエステル

工程4で得た化合物(1.07g、2.67mmol)をエタノール(100ml)に溶解し、5%Pd-炭素(200mg)を加えた後、水素気流下、室温で16時間攪拌した。反応液をろ過し、ろ液を濃縮することにより標題化合物(914mg、2.27mmol)を得た。

## 【0069】

工程6. 3-[4-(2, 3, 4, 5-テトラメトキシ-6-メチルベンジル)フェニル]プロピオン酸

工程5で得た化合物(914mg、2.27mmol)を、2規定水酸化ナトリウム水溶液(30ml)および1,4-ジオキサン(15ml)の混合液に溶解し、70°Cで3時間攪拌した。反応液に濃塩酸を加えて酸性にした後、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗、乾燥した後、溶媒留去し、標題化合物(731mg、1.95mmol)を得た。

## 【0070】

工程7. 3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオン酸

工程6で得た化合物(1.00g、2.67mmol)をアセトニトリル(30ml)および水(10ml)の混合液に溶解し、CAN(硝酸第二セリウムアンモニウム)(2.34g、4.27mmol)を加えて、室温で30分間攪拌した。反応液を水にあけ、エーテル抽出した。抽出液は、水洗、乾燥した後、溶媒を留去した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(5%メタノール-塩化メチレン)で精製し、標題化合物(662mg、1.92mmol)を得た。

NMR(CDC<sub>3</sub>) : 2.09(3H, s), 2.62(2H, t), 2.

8.9 (2H, t), 3.80 (2H, s), 3.99 (6H, s), 6.95-7.30 (4H, m). EIMS ( $m/z$ ) : 344 (M).

## 【0071】

実施例2. 3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリル酸の合成

工程1. 3-[4-(2, 3, 4, 5-テトラメトキシ-6-メチルベンシリル) フェニル] アクリル酸

実施例1の工程4で得た化合物 (1. 35g、3. 36mmol) を、2規定水酸化ナトリウム水溶液 (30ml) および1, 4-ジオキサン (15ml) の混合液に溶解し、70℃で3時間攪拌した。反応液に濃塩酸を加えて酸性にした後、酢酸エチルで抽出した。抽出液を水洗、乾燥した後、溶媒留去し、標題化合物 (1. 20g、3. 23mmol) を得た。

## 【0072】

工程2. 3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリル酸

工程1で得た化合物 (589mg、1. 58mmol) を、アセトニトリル (30ml) および水 (10ml) の混合液に溶解し、CAN (1. 38g、2. 52mmol) を加えて、室温で1時間攪拌した。反応液を水にあけ、エーテル抽出した。抽出液は、水洗、乾燥した後、溶媒を留去した。残査をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (5%メタノール-塩化メチレン) で精製し、標題化合物 (452mg、1. 32mmol) を得た。

NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) : 2.09 (3H, s), 3.87 (2H, s), 4.00 (6H, s), 6.39 (1H, d), 7.22 (2H, d), 7.47 (2H, d), 7.73 (1H, d). FABMS ( $m/z$ ) : 343 (M+H)

## 【0073】

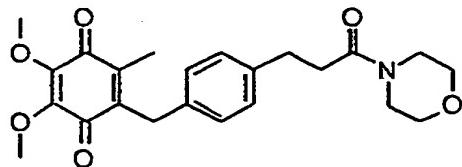
実施例3. N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] プロピオニル] モルフォリンの合成

実施例1で得た3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオン酸(100mg、0.29mmol)とモルフォリン(30mg、0.35mmol)の塩化メチレン(10ml)溶液に、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(84mg、0.44mmol)を加え、室温で3時間攪拌した。反応液を減圧濃縮し、シリカゲルを用いた中圧カラムクロマトグラフィー(ヘキサン：酢酸エチル=1:2)で精製した。

得られた黄色粉末を、塩化メチレン-ジエチルエーテルから結晶化し、標題化合物(89mg、0.22mmol、収率74%)を黄色結晶として得た。

【0074】

【化32】



NMR(CDCl<sub>3</sub>) 2.08(3H, s), 2.57(2H, t), 2.93(2H, t), 3.30-3.40  
(2H, m), 3.45-3.55(2H, m), 3.55-3.65(4H, m), 3.81  
(2H, s), 3.98(3H, s), 3.99(3H, s), 7.10(4H, s).

FABMS(m/z) 414(M+H)<sup>+</sup>IR(KBr), cm<sup>-1</sup> 1646, 1614

m.p. (°C) 65-67

【0075】

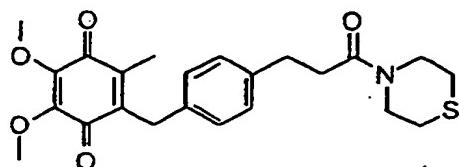
実施例4. N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]チオモルホリ  
ン

実施例1で得た3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオン酸(27mg、0.078mmol)とクロル炭酸エチル(15mg、0.139mmol)のTHF(10ml)溶液に、-10°Cでトリエチルアミン(14mg、0.139mmol)を加えて30分間攪拌した後、チオモルフォリン(20mg、0.194mmol)を加え、室温で1時間攪

拌した。反応液を水で希釈してエーテル抽出し、抽出液を水洗、乾燥した後、溶媒を留去した。得られた残査を、シリカゲルを用いた中圧カラムクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル=1:1）で精製した。得られた黄色粉末を、塩化メチレン-ジエチルエーテルから結晶化し、標題化合物（26mg、0.061mmol、収率77%）を黄色結晶として得た。

## 【0076】

## 【化33】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.09 (3H, s), 2.25-2.65 (4H, m), 2.57 (2H, t), 2.91 (2H, t), 3.55-4.95 (2H, m), 3.81 (2H, s), 3.99 (6H, s), 7.12 (4H, s).

EIMS (m/z) 429 (M)

IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 1648

m.p. (°C) 65-67

## 【0077】

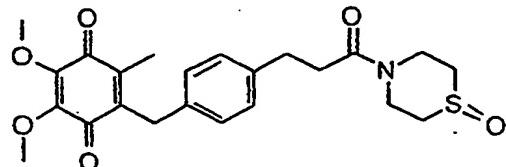
実施例5および6. N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]チオモルフォリンS-オキシド（実施例5）およびN-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]チオモルフォリンS-ジオキシド（実施例6）の合成

実施例4の化合物（200mg、0.47mmol）の塩化メチレン（50ml）溶液に、m-クロル過安息香酸（121mg、0.70mmol）を加えて、室温で5時間攪拌した。反応液を水洗した後、乾燥し、減圧濃縮した。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（5% MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>）で精製し、実施例5の化合物（60mg、収率28%）および実施例6の化合物（50mg、収率24%）を得た。

## 【0078】

(実施例5)

## 【化34】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.09 (3H, s), 2.10-2.20 (1H, m), 2.50-2.70 (4H, m), 2.70-2.85 (1H, m), 2.85-3.00 (2H, m), 3.60-3.80 (2H, m), 3.80 (2H, s), 3.98 (3H, s), 3.99 (3H, s), 3.95-4.10 (1H, m), 4.40-4.55 (1H, m), 7.12 (4H, s).

FABMS (m/z) 446 (M+H)

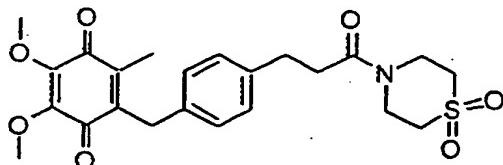
IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 1668, 1645, 1608.

m.p. (°C) 114-116

## 【0079】

(実施例6)

## 【化35】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.10 (3H, s), 2.50-2.70 (4H, m), 2.85-3.00 (4H, m), 3.70-3.90 (4H, m), 3.98 (3H, s), 3.99 (3H, s), 4.00-4.15 (2H, m), 7.00-7.20 (4H, q).

FABMS (m/z) 462 (M+H)

IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 1668, 1645, 1608.

m.p. (°C) 104-105

## 【0080】

実施例7-20.

実施例3の方法に準じて、実施例7-20の化合物を合成した。

(実施例7)

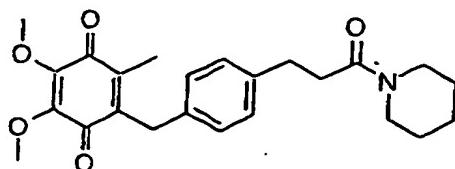
N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-

2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]ピペリジン

実施例1で得た3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオン酸(200mg、0.58mmol)とピペリジン(64mg、0.75mmol)を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物(118mg、0.79mmol、収率50%)を得た。

【0081】

【化36】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 1.52 (6H, m), 2.07 (3H, s), 2.56 (2H, m), 2.91 (2H, m), 3.32 (2H, m), 3.54 (2H, m), 3.80 (2H, s), 3.98 (3H, s), 3.99 (3H, s), 7.10 (4H, m).

FABMS (m/z) 412 (M+H)

IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 2936, 1642, 1611, 1443, 1265.

m.p. (°C) 油状物

【0082】

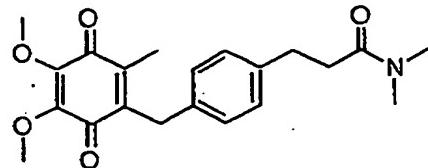
(実施例8)

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]ジメチルアミン

実施例1で得た3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオン酸(200mg、0.58mmol)とジメチルアミン塩酸塩(62mg、0.75mmol)およびトリエチルアミン(76mg、0.75mmol)を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物(38mg、0.10mmol、収率18%)を得た。

【0083】

## 【化37】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.07 (3H, s), 2.57 (2H, m), 2.91 (2H, m), 2.92 (3H, s),  
2.94 (3H, s), 3.81 (2H, s), 3.98 (3H, s), 3.99 (3H, s),  
7.10 (4H, m).

FABMS (m/z) 372 (M+H)

IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 2943, 1657, 1651, 1644, 1266.  
m.p. (°C) 油状物

## 【0084】

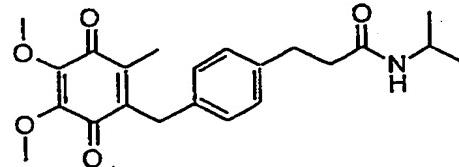
## (実施例9)

N - [3 - [4 - (5, 6 - ジメトキシ - 3 - メチル - 1, 4 - ベンゾキノン - 2 - イルメチル) フェニル] プロピオニル] イソプロピルアミン

実施例1で得た3 - [4 - (5, 6 - ジメトキシ - 3 - メチル - 1, 4 - ベンゾキノン - 2 - イルメチル) フェニル] プロピオニ酸 (200 mg、0. 58 mmol) とイソプロピルアミン (44 mg、0. 75 mmol) を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物 (46 mg、0. 12 mmol、収率21%)を得た。

## 【0085】

## 【化38】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 1.06 (6H, d), 2.07 (3H, s), 2.37 (2H, m), 2.90 (2H, m),  
3.80 (2H, s), 3.98 (3H, s), 3.99 (3H, s), 4.00 (1H, m),  
5.05 (1H, br), 7.09 (4H, s).

FABMS (m/z) 386 (M+H)

IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 3306, 1637, 1612, 1543, 1261.  
m.p. (°C) 114-116

## 【0086】

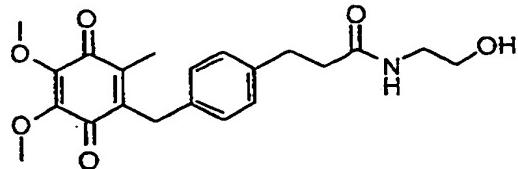
## (実施例10)

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]エタノールアミン

実施例1で得た3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオン酸(200mg、0.58mmol)とエタノールアミン(47mg、0.75mmol)を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物(65mg、0.18mmol、収率29%)を得た。

【0087】

## 【化39】



NMR(CDCl<sub>3</sub>) 2.08(3H, s), 2.45(2H, m), 2.92(2H, m), 3.33(2H, m), 3.59(2H, m), 3.80(2H, s), 3.98(6H, s), 5.67(1H, br), 7.10(4H, m).

FABMS(m/z) 388(M+H)<sup>+</sup>

IR(KBr), cm<sup>-1</sup> 3297, 2943, 1645, 1612, 1265.  
m.p. (°C) 97-98

【0088】

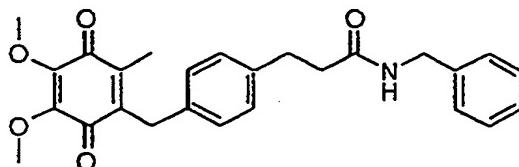
## (実施例11)

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオニル]ベンジルアミン

実施例1で得た3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]プロピオン酸(200mg、0.58mmol)とベンジルアミン(80mg、0.75mmol)を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物(33mg、0.08mmol、収率13%)を得た。

【0089】

## 【化40】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.06 (3H, s), 2.47 (2H, m), 2.94 (2H, m), 3.80 (2H, s), 3.98 (6H, s), 4.40 (2H, d, J=5.7 Hz), 5.55 (1H, br), 7.08 (4H, s), 7.17 (2H, m), 7.28 (3H, m).  
 FABMS (m/z) 434 (M+H)  
 IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 3279, 1638, 1612, 1263.  
 m.p. (°C) 119-121

## 【0090】

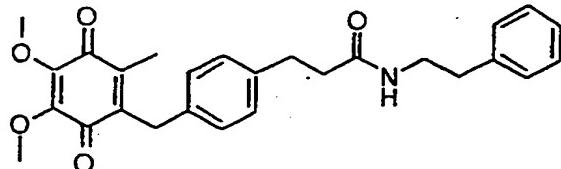
## (実施例12)

N-[3-[4-(5,6-dimethyl-3-methyl-1,4-benzodioxin-2-ylmethyl)phenyl]propiyl]feneethylamin

実施例1で得た3-[4-(5,6-dimethyl-3-methyl-1,4-benzodioxin-2-ylmethyl)phenyl]propiyl酸(200mg、0.58mmol)とフェネチルアミン(91mg、0.75mmol)を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物(61mg、0.14mmol、収率24%)を得た。

## 【0091】

## 【化41】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.06 (3H, s), 2.37 (2H, m), 2.72 (2H, m), 2.88 (2H, m), 3.47 (2H, m), 3.80 (2H, s), 3.96 (3H, s), 3.97 (3H, s), 5.27 (1H, br), 7.08 (6H, m), 7.20-7.29 (3H, m).  
 FABMS (m/z) 448 (M+H)  
 IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 3294, 1640, 1614, 1263.  
 m.p. (°C) 118-119

## 【0092】

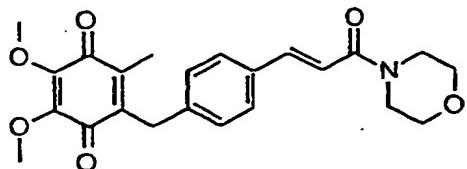
(実施例13)

N - [3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ -3 -メチル -1, 4 -ベンゾキノン -2 -イルメチル) フェニル] アクリロイル] モルフォリン

実施例2で得た3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ -3 -メチル -1, 4 -ベンゾキノン -2 -イルメチル) フェニル] アクリル酸(200mg、0.58mmol)とモルフォリン(65mg、0.75mmol)を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物(102mg、0.25mmol、収率43%)を得た。

## 【0093】

【化42】



NMR(CDCl<sub>3</sub>) 2.08(3H, s), 3.17(8H, m), 3.85(2H, s), 3.99(6H, s),  
6.77(1H, d, J=15.4 Hz), 7.18(2H, m), 7.41(2H, m),  
7.64(1H, d, J=15.4 Hz).

FABMS(m/z) 412(M+H)<sup>+</sup>IR(KBr), cm<sup>-1</sup> 2950, 2848, 1647, 1612, 1434, 1270.

m.p.(°C) 124-125

## 【0094】

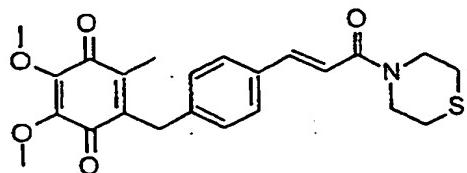
(実施例14)

N - [3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ -3 -メチル -1, 4 -ベンゾキノン -2 -イルメチル) フェニル] アクリロイル] チオモルフォリン

実施例2で得た3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ -3 -メチル -1, 4 -ベンゾキノン -2 -イルメチル) フェニル] アクリル酸(200mg、0.58mmol)とチオモルフォリン(77mg、0.75mmol)を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物(140mg、0.33mmol、収率56%)を得た。

## 【0095】

## 【化43】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.08 (3H, s), 2.66 (4H, m), 3.85 (2H, s), 3.99 (6H, s),  
6.77 (1H, d, J=15.4 Hz), 7.18 (2H, m), 7.41 (2H, m),  
7.61 (1H, d, J=15.4 Hz).  
FABMS (m/z) 428 (M+H)<sup>+</sup>  
IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 2915, 1647, 1607, 1448, 1267.  
m.p. (°C) 120-121

## 【0096】

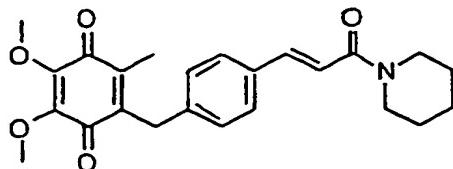
## (実施例15)

N - [3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ - 3 -メチル - 1, 4 -ベンゾキノン - 2 -イルメチル) フェニル] アクリロイル] ピペリジン

実施例2で得た3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ - 3 -メチル - 1, 4 -ベンゾキノン - 2 -イルメチル) フェニル] アクリル酸 (200 mg、0. 58 mmol) とピペリジン (65 mg、0. 76 mmol) を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物 (129 mg、0. 32 mmol、収率54%)を得た。

## 【0097】

## 【化44】



**NMR (CDCl<sub>3</sub>)** 1.50-1.75 (6H, m), 2.08 (3H, s), 3.45-3.75 (4H, m), 3.85 (2H, s), 3.99 (6H, s), 6.84 (1H, d, J=15.4 Hz), 7.17 (2H, d), 3.99 (6H, s), 6.84 (1H, d, J=15.4 Hz), 7.17 (2H, d, J=8.17), 7.41 (2H, d, J=8.1 Hz), 7.59 (1H, d, J= 15.4 Hz).

**FABMS (m/z)** 410 (M+H)

**IR (KBr), cm<sup>-1</sup>** 1669, 1646, 1604.

**m.p. (°C)** 162-163

## 【0098】

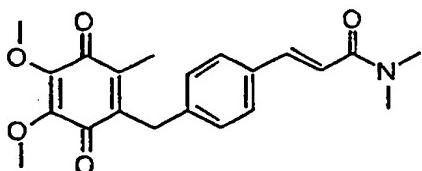
## (実施例16)

N - [3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ - 3 -メチル - 1, 4 -ベンゾキノン - 2 -イルメチル) フェニル] アクリロイル] ジメチルアミン

実施例2で得た3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ - 3 -メチル - 1, 4 -ベンゾキノン - 2 -イルメチル) フェニル] アクリル酸 (200 mg、0. 58 mmol) とジメチルアミン塩酸塩 (61 mg、0. 75 mmol) およびトリエチルアミン (76 mg、0. 75 mmol) を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物 (23 mg、0. 06 mmol、収率11%)を得た。

## 【0099】

## 【化45】



**NMR (CDCl<sub>3</sub>)** 2.08 (3H, s), 3.06 (3H, s), 3.15 (3H, s), 3.85 (2H, s), 3.99 (6H, s), 6.38 (1H, d, J=15.4 Hz), 7.18 (2H, d, J=8.1 Hz), 7.42 (2H, d, J=8.1 Hz), 7.61 (1H, d, J=15.4 Hz).

**FABMS (m/z)** 370 (M+H)

**IR (KBr), cm<sup>-1</sup>** 2944, 1650, 1607, 1265.

**m.p. (°C)** 93-94

## 【0100】

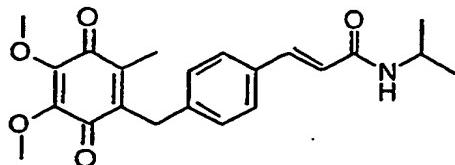
## (実施例17)

N-[3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]アクリロイル]イソプロピルアミン

実施例2で得た3-[4-(5,6-ジメトキシ-3-メチル-1,4-ベンゾキノン-2-イルメチル)フェニル]アクリル酸(200mg、0.58mmol)とイソプロピルアミン(44mg、0.75mmol)を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物(48mg、0.13mmol、収率22%)を得た。

## 【0101】

## 【化46】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 1.22 (6H, d, J=6.5 Hz), 2.08 (3H, s), 3.85 (2H, s), 3.99 (6H, s), 4.21 (1H, m), 5.35 (1H, br d), 6.28 (1H, d, J=15.6 Hz), 7.17 (2H, m), 7.39 (2H, m), 7.55 (1H, d, J=15.6 Hz).

FABMS (m/z) 384 (M+H)

IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 3292, 2977, 1653, 1618, 1544, 1263.

m.p. (°C) 118-119

## 【0102】

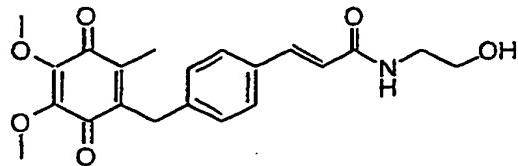
## (実施例18)

N - [3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ - 3 -メチル - 1, 4 -ベンゾキノン - 2 -イルメチル) フェニル] アクリロイル] エタノールアミン

実施例2で得た3 - [4 - (5, 6 -ジメトキシ - 3 -メチル - 1, 4 -ベンゾキノン - 2 -イルメチル) フェニル] アクリル酸 (200 mg、0. 58 mmol) とエタノールアミン (4.6 mg、0. 75 mmol) を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物 (1.4 mg、0. 04 mmol、収率6%)を得た。

## 【0103】

## 【化47】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.08 (3H, s), 2.51 (1H, br), 3.55 (2H, m), 3.80 (2H, m), 3.85 (2H, s), 3.98 (6H, s), 6.02 (1H, br), 6.36 (1H, d, J=15.6 Hz), 7.18 (2H, d, J=8.0 Hz), 7.40 (2H, d, J=8.1 Hz), 7.59 (2H, d, J=15.6 Hz).  
 FABMS (m/z) 386 (M+H)<sup>+</sup>  
 IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 3275, 2940, 1656, 1611, 1267.  
 m.p. (°C) 114-115

## 【0104】

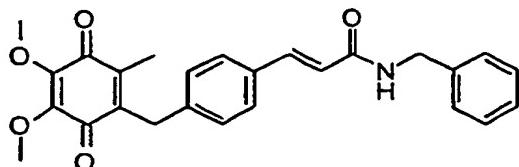
## (実施例19)

N - [3 - [4 - (5, 6 - ジメトキシ - 3 - メチル - 1, 4 - ベンゾキノン - 2 - イルメチル) フェニル] アクリロイル] ベンジルアミン

実施例2で得た3 - [4 - (5, 6 - ジメトキシ - 3 - メチル - 1, 4 - ベンゾキノン - 2 - イルメチル) フェニル] アクリル酸 (200 mg、0.58 mmol) とベンジルアミン (80 mg、0.75 mmol) を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物 (104 mg、0.24 mmol、収率42%)を得た。

## 【0105】

## 【化48】



**NMR (CDCl<sub>3</sub>)** 2.08 (3H, s), 3.85 (2H, s), 3.99 (6H, s), 4.57 (2H, d, J=5.7 Hz), 5.82 (1H, m), 6.34 (1H, d, J=15.6 Hz), 7.17 (2H, m), 7.28-7.36 (5H, m), 7.39 (2H, m), 7.62 (1H, d, J=15.6 Hz).

**FABMS (m/z)** 432 (M+H)

**IR (KBr), cm<sup>-1</sup>** 3426, 3064, 2923, 1654, 1612, 1266.

**m.p. (°C)** 124-125

## 【0106】

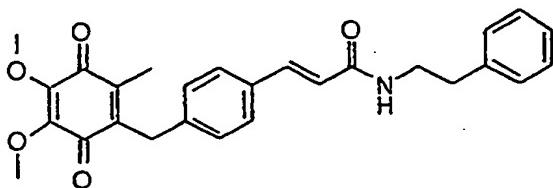
## (実施例20)

N-[3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリロイル] フェネチルアミン

実施例2で得た3-[4-(5, 6-ジメトキシ-3-メチル-1, 4-ベンゾキノン-2-イルメチル) フェニル] アクリル酸 (200mg、0.58mmol) とフェネチルアミン (91mg、0.75mmol) を用いた他は実施例3と同様にして標題化合物 (170mg、0.38mmol、収率65%)を得た。

## 【0107】

## 【化49】



NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2.08 (3H, s), 2.88 (2H, m), 3.65 (2H, m), 3.84 (2H, s), 3.99 (6H, s), 5.54 (1H, br), 6.25 (2H, d, J=15.6 Hz), 7.16 (2H, m), 7.22 (3H, m), 7.32 (2H, m), 7.38 (2H, m), 7.55 (2H, d, J=15.6 Hz).

FABMS (m/z) 446(M+H)

IR (KBr), cm<sup>-1</sup> 3297, 1651, 1615, 1264.

m.p. (°C) 141-142

## 【0108】

実験例1. ゲルシフト法

ゲルシフト法によって、h i N O S 遺伝子の5' - フランкиング領域〔転写開始点の上流131塩基～97塩基（-131番～-97番）；配列番号：1〕に存在するN F - κ B 結合配列〔転写開始点の上流115塩基～106塩基（-115番～-106番）、配列番号：1における17番（G）～26番（C）〕に結合する蛋白質を、サイトカイン刺激によって認めることができる。

## 【0109】

ゲルシフト法は、本配列（配列番号：1）をディゴキシゲニン（D I G）化し、ATCC (CCL185) から入手したA 549細胞から抽出した核画分とインキュベートし、7.5%ポリアクリルアミドゲルを用いて4°Cで電気泳動することによって行なった。また、細胞の核画分は細胞を無刺激ならびにIL-1 $\beta$  (1 ng/ml) およびCM (ヒトIL-1 $\beta$  (1 ng/ml) +ヒトIFN- $\gamma$  (1000 U/ml) +ヒトTNF- $\alpha$  (500 ng/ml)) で4時間刺激した細胞をシュライバーらの方法 (Auphan, N., DiDonato, J.A., Rosette, C., Helmburg, A. and Karin, M. (1995) Science 270, 286-290) で抽出した。電気泳動の終わったゲル中のDNAを電気転写法を用いてナイロン膜に移し替え、化学発光するDIG認識抗体でDIG化されたDNAを検出する。

## 【0110】

図1は、その結果を示したものであるが、本配列には非刺激時のA549細胞にも非特異的に結合する蛋白質（A）が認められることがわかった。しかし、IL-1 $\beta$ やCM刺激によって強い別の結合蛋白質（B）が結合するようになることがわかった。これらのことから、本細胞は、サイトカイン刺激によってNF- $\kappa$ Bが活性化されることが示された。

この実験条件において、実施例4で得られた化合物（20 micro g/ml）を添加しておくと、CMの刺激によるA549細胞のNF- $\kappa$ Bの活性化が抑制されていることが明らかとなった（図2）。

## 【0111】

実験例2. NF- $\kappa$ B結合配列によって制御されているルシフェラーゼプラスミド（pNF $\kappa$ B-Luc、ストラタジーン社、米国）を安定導入したヒト肺癌由来株細胞A549（A549/NF- $\kappa$ B Luc）に対する反応

A549細胞にリポフェクトアミン（ライフテックオリエンタル社、東京）を用いて、pNF $\kappa$ B-LucとpSV2neo（クローンテック社、米国）を同時に常法に従いトランスフェクションし、G418硫酸塩（1 mg/ml、ライフテックオリエンタル社）を培地に添加することでpNF $\kappa$ B-Lucが安定導入された細胞A549/NF- $\kappa$ B Lucを選択した。

## 【0112】

A549/NF- $\kappa$ B LucをIL-1 $\beta$ もしくはTNF- $\alpha$ で4時間刺激した場合において、実施例4で得られた化合物は、NF- $\kappa$ Bの活性化で制御されているルシフェラーゼの活性を抑制することが確認できた（図3）。また、IC<sub>50</sub>値を実施例7及び9の化合物とともに表1に示した。

## 【0113】

【表1】

表 1

被検化合物	IC50(micro g/ml)	
	IL-1刺激	TNF刺激
実施例4	10	6
実施例7	6	5
実施例9	4	3.5

## 【0114】

実験例3. リポ多糖(LPS)刺激によるNOおよびTNF- $\alpha$ 産生への影響

細胞が実際に、NOを産生していることを間接的に知る方法として、ジアゾ化反応を利用したグリース法が知られている。グリース法は、ナフチルエチレンジアミンとスルファニル酸を混合したグリース試薬と培養液中のNO<sub>2</sub><sup>-</sup>イオンを反応させてその発色を540 nmの吸収で測定する。この方法によって、24時間後の細胞培養液中に蓄積されたNO量を測定した結果、LPS刺激をしたマウスマクロファージ由来RAW264.7細胞(ATCC、TIB-71)から遊離されてくるNOの産生を実施例4で得られた化合物が抑制することが明らかとなった(図4A)。

## 【0115】

また、本実験例でも示すように、TNF- $\alpha$ はLPS刺激によってNF- $\kappa$ Bが活性化されると産生されることが知られているが、実施例4で得られた化合物はLPSで4時間刺激をしたRAW264.7細胞から遊離されてくるTNF- $\alpha$ の産生をも抑制することがわかった(図4B)。

また、IC50値を実施例7及び9の化合物とともにNO産生、TNF- $\alpha$ 産生に対する影響として表2に示した。

## 【0116】

【表2】

表 2

被検化合物	IC50(micro g/ml)	
	IL-1刺激	TNF刺激
実施例4	10	10
実施例7	4	10
実施例9	2.5	3.5

## 【0117】

さらにこれらの抑制のメカニズムは、RAW264.7細胞から抽出したmRNAを逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）法で検出したところiNOSおよびTNF- $\alpha$ の遺伝子発現レベルでの抑制であることが確認された（図5）。

## 【0118】

## 【発明の効果】

本発明にかかる化合物は、NF- $\kappa$ Bが活性化されるのを抑制することができるため、NF- $\kappa$ Bの活性化に起因する疾患、例えば種々の炎症メディエーターの過剰産生やウイルスの増殖に起因する疾病に対する予防薬および治療薬として有効である。本発明のNF- $\kappa$ B阻害剤は、具体的には、例えば、NOやTNF- $\alpha$ の過剰産生に起因する疾患、例えば、敗血症ショック、変形性関節症、慢性関節リウマチ、悪液質、多臓器不全、炎症性腸疾患、マラリア、後天性免疫不全症候群、ヒトT細胞白血病、髄膜炎、肝炎、II型糖尿病、多発性硬化症、ベーチェット病、全身性紅斑性狼瘡、全身性エリテマトーデス、虚血性心疾患などに対する治療及び予防薬として有用である。

【0119】

【配列表】

配列番号 1

配列の長さ : 35

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 他の核酸 (合成DNA)

配列

AACTGTACAC AAGCTGGGGA CACTCCCTTT GGAAA

35

## 【図面の簡単な説明】

## 【図1】

A549細胞をサイトカイン刺激したときの核抽出物のゲルシフトアッセイの結果を示す図である。レーン1；抽出物無し、レーン2及び3；サイトカイン刺激無し、レーン4及び5；IL-1 $\beta$  4時間刺激、レーン6及び7；CM 4時間刺激の場合を示す。レーン3、5及び7は20倍濃度のDIG-freeプローブを添加した。

## 【図2】

ゲルシフトアッセイにより実施例4で得られた化合物がCM刺激後のNF- $\kappa$ Bの活性化を抑制していることを示す図である。

Lは、NF- $\kappa$ B結合配列を含む標識プローブと核抽出物との複合体を示し、Fは、Lと同じ条件で更に非標識プローブを標識プローブの100倍添加した場合の実験結果を示す。

## 【図3】

A549/NF- $\kappa$ B L ucをIL-1又はTNFで刺激した場合の実施例4で得られた化合物による影響を示す図である。実施例4で得られた化合物を添加し、1時間後にIL-1又はTNFで4時間刺激後のレポーター遺伝子の活性を測定した結果を示す。

## 【図4】

マウスマクロファージ由来RAW264.7を用いてLPS刺激後のNOやTNFの産生に対する実施例4で得られた化合物による影響を示す図である。

実施例4で得られた化合物をLPS刺激1時間前に培養液中に添加し、刺激24時間後の培養液中のNOレベル(A)及び4時間後の培養液中のTNFレベル(B)を測定した結果を示す。

【図5】

RAW264.7細胞におけるiNOS及びTNF- $\alpha$ のmRNA量の変化を示した図である。

Aは、LPS刺激6時間後の細胞内iNOS mRNAレベル及びTNF mRNAレベルを測定した結果を示す。

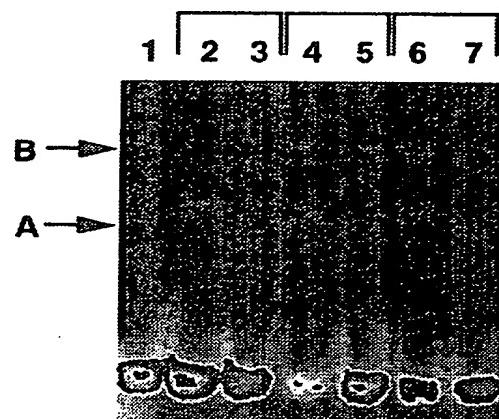
Bは、実施例4で得られた化合物（20 $\mu$ g/ml）をLPS刺激1時間前に培養液中に添加し、刺激6時間後の細胞内iNOS mRNAレベル及びTNF mRNAレベルを測定した結果を示す。

【書類名】

図面

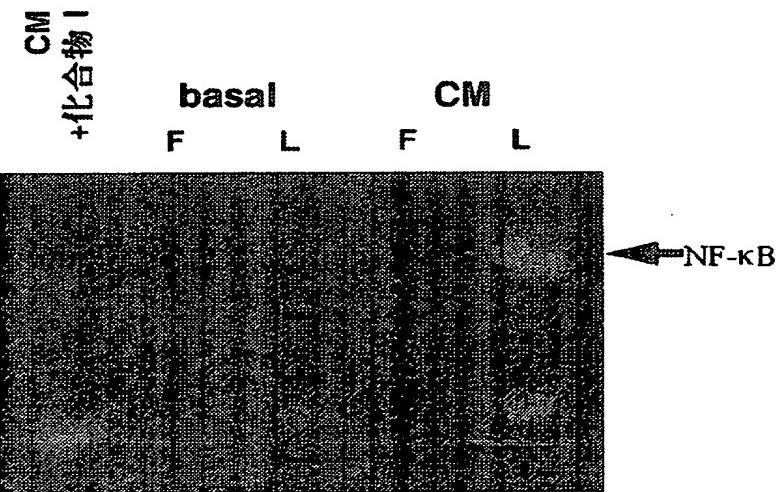
【図1】

図面代用写真

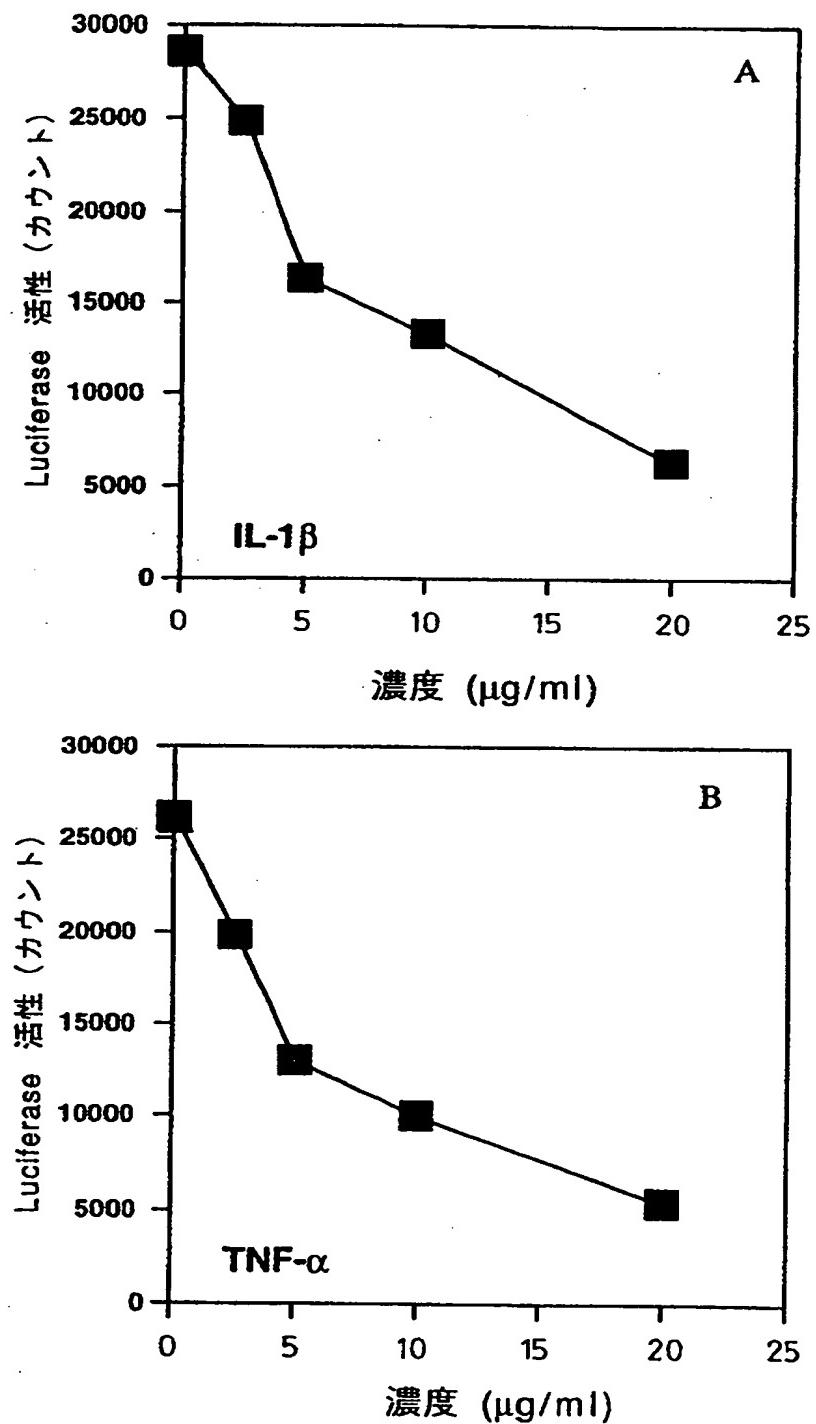


【図2】

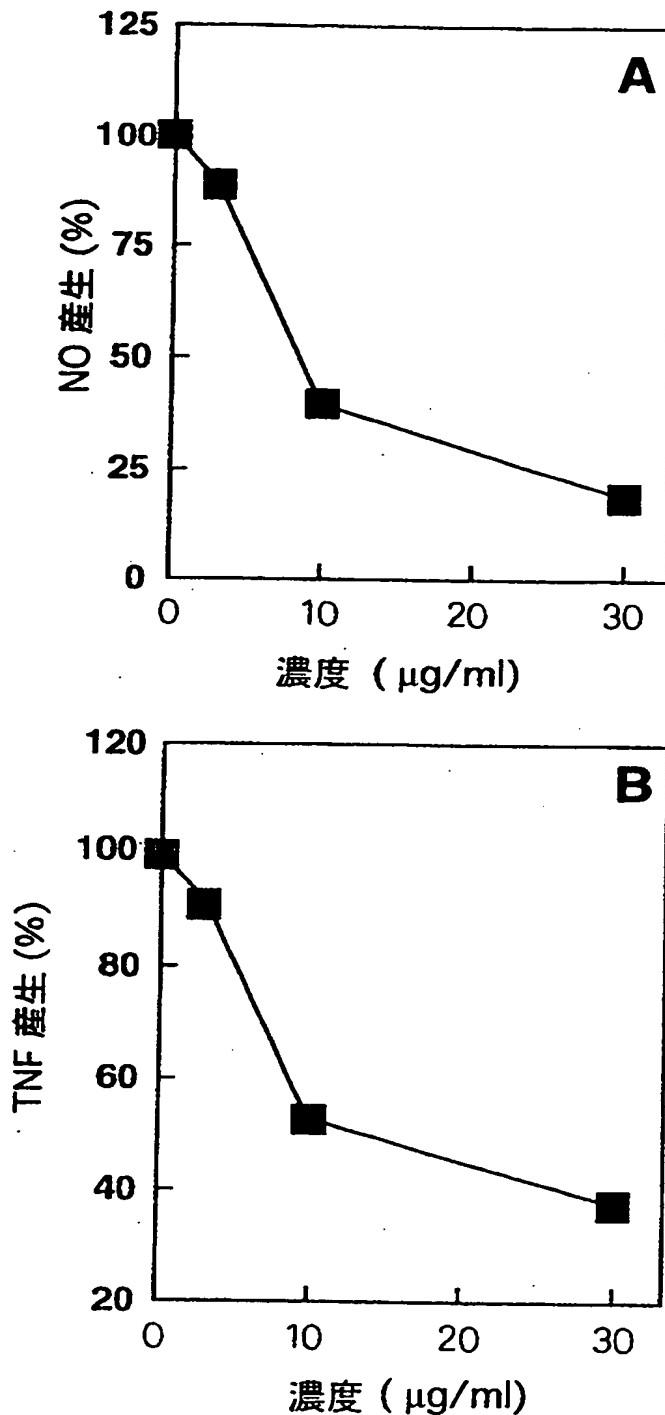
図面代用写真



【図3】

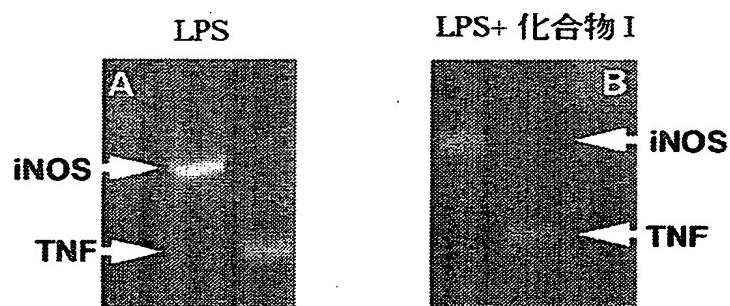


【図4】



【図5】

顕微鏡用写真



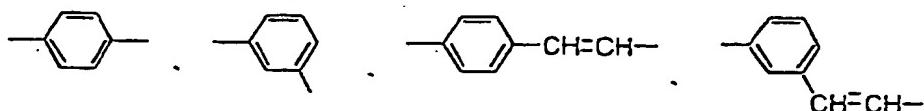
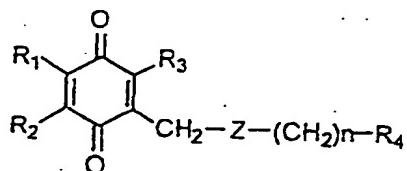
【書類名】 要約書

## 【要約】

【課題】 NF- $\kappa$ Bに対する新規な阻害剤の提供。

【解決手段】 一般式(I)（式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>は各々独立に、H、炭素数1-5のアルキルまたは炭素数1-5のアルコキシ；R<sub>4</sub>はH、ヒドロキシメチル、アルキル、またはエステル化もしくはアミド化されていてもよいカルボキシリル；Zは式(A)で示され；nは0~3）で表わされるベンゾキノン誘導体もしくはそのヒドロキノン体またはその塩を有効成分とする、NF- $\kappa$ Bに対する阻害剤。

## 【化1】



【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ  
 【訂正書類】 特許願

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】 000001904  
 【住所又は居所】 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号  
 【氏名又は名称】 サントリー株式会社  
 【代理人】 申請人  
 【識別番号】 100077517  
 【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所  
 【氏名又は名称】 石田 敬  
 【代理人】 申請人  
 【識別番号】 100087871  
 【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所  
 【氏名又は名称】 福本 積  
 【代理人】 申請人  
 【識別番号】 100088269  
 【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所  
 【氏名又は名称】 戸田 利雄  
 【代理人】 申請人  
 【識別番号】 100082898  
 【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所  
 【氏名又は名称】 西山 雅也

出願人履歴情報

識別番号 [00001904]

1. 変更年月日 1990年 8月13日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号  
氏 名 サントリー株式会社

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**